

Aus der Städtischen Kinderklinik Berlin-Charlottenburg

Direktor: Prof. Dr. med. Heinrich Wiesener

Untersuchungen zur Verwertung von Aminosäuren
bei natürlich und künstlich ernährten Neugeborenen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Joachim Stewin

Berlin

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549013_0052

Aus der Städtischen Kinderklinik Berlin-Charlottenburg
Direktor: Prof. Dr. med. Heinrich Wiesener

**Untersuchungen zur Verwertung von Aminosäuren
bei natürlich und künstlich ernährten Neugeborenen**

Inaugural-Dissertation

zur

**Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Joachim Stewin**

Berlin

Referent: Prof. Dr. med. Heinrich Wiesener

Korreferent: Prof. Dr. L. Ballowitz



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 9.9.1976

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
Eigene Untersuchungen	4
A Methodik	4
I Auswahl der Neugeborenen	4
II Proteingehalt der verwendeten natürlichen und künstlichen Nahrung	6
III Normalwerte der untersuchten Aminosäuren nach verschiedenen Publikationen	7
IV Quantitative Bestimmung der untersuchten Aminosäuren	8
B Ergebnisse	11
Diskussion der Ergebnisse	22
Zusammenfassung	37
Anhang	39
Literaturverzeichnis	71

EINLEITUNG

Der Säugerorganismus verfügt nicht über Proteinreserven. Seine Stickstoffverluste müssen durch Synthese von körpereigenem Eiweiß ständig ausgeglichen werden. Im Stoffwechsel können Nahrungseiweiß oder Aminosäuren durch Fett oder Kohlenhydrate nicht ersetzt werden.

Die tägliche Zunahme von Körpereiwweiß bestimmt den Bedarf an Nahrungseiweiß von Früh- und Reifgeborenen. Weiterhin kommt es bei der Bestimmung des Proteinbedarfs auf die biologische Wertigkeit der jeweiligen Nahrungsproteine an, die abhängig ist von der Qualität und Quantität der an ihrem Aufbau beteiligten Aminosäuren. Sieht man von der Verdaulichkeit und Verträglichkeit ab, so werden bei größerem biologischen Wert eines Proteins zur Deckung des gleichen Bedarfs an Eiweiß bzw. stickstoffhaltigen Proteinbausteinen, den Aminosäuren, geringere Mengen benötigt.

Nach Droese (1) ist der Proteingehalt dann zweckmäßig, wenn er ausreicht, um sowohl den Anwuchs von Körpergewebe als auch die sogenannte chemische Reifung (Stickstoffgehalt) des Gewebes zu gewährleisten.

Snyderman hat festgestellt (2), daß der Stickstoffhunger des Frühgeborenen erheblich größer ist als der des Reifgeborenen; gleiche Proteingaben bewirken eine höhere Speicherung des Stickstoffs. Plasmaproteine von Frühgeborenen, die am ersten Lebenstag vor der Fütterung bestimmt wurden, zeigen, daß sowohl das gesamte Protein als auch seine electrophoretisch trennbaren Komponenten niedriger waren als beim Reifgeborenen. Je kleiner das Kind, desto niedriger die Werte. Gordon et al. (3,4) wiesen nach, daß nach Fütterung mit Kuhmilch Frühgeborene schneller an Gewicht zunahmen als nach Fütterung mit Frauenmilch. Es ergab sich jedoch, daß die erhöhte Gewichtszunahme auf die vermehrte Wasserretention zurückzuführen war, die sich aus dem hohen Elektrolytgehalt der Kuhmilch erklären läßt.

Snyderman und Holt (5) stellen fest, daß die Mehrzahl der Frühgeborenen gut gedeiht und "normal" zunimmt, wenn Proteingaben von 2 bis 9g/kg/die eingehalten werden. Sie kommen zu einem Richtwert, der ungefähr dem Proteinbedarf des Frühgeborenen entsprechen könnte, von 2g/kg/die Protein in der Nahrung bei Fütterung von Kuhmilch. Auch Droese empfiehlt für Frühgeborene mehr Protein als für Reifgeborene und verweist dabei auf Erfolge Melichars (6).

Den Proteinbedarf für Reifgeborene stellten Holt und Snyderman (7) in Experimenten fest, bei denen die Gabe von Kuhmilchprotein allmählich so lange reduziert wurde, bis das Gewicht stark abgesunken und die Stickstoffretention beeinträchtigt war. Sie stellten dabei fest, daß alle Kinder bei einer Gabe von 1,3 g/kg/die Kuhmilchprotein in der Nahrung noch gut gediehen. Man kann diesen Wert als Richtwert für den Minimalbedarf betrachten.

Scriber und Rosenberg (8) nennen für die ersten beiden Lebensmonate einen Proteinbedarf von 2,2 g/kg/die.

Droese schließt sich den Empfehlungen der Food and Nutrition Board mit einer Proteingabe von $2,5 \pm 0,5$ g/kg/die bei Kuhmilchfütterung an. Er hält im ersten Lebensvierteljahr einen Proteingehalt von 1,7 g%, das entspricht einer Proteinzufuhr von 2,8 g/kg/die, für ausreichend.

Huber (1) bezeichnet 1 g% Proteingehalt der Nahrung als Bedarfsminimum.

Schmidt (11) gibt einen Optimalbedarf von 4 g/kg/die Protein an, dies entspricht einem Proteingehalt der gefütterten Nahrung von 1,8 - 1,9 g%.

Allerdings reichen quantitative Angaben zur Beurteilung einer Nahrung für Reif- und Frühgeborene nicht aus.

Zweifellos spielt die Zusammensetzung des zugeführten Eiweißes eine ebenso große Rolle. Zwei Gesichtspunkte sind bei dieser qualitativen Beurteilung von Nahrungseiweiß notwendig:

1. Die Verwertbarkeit und Verträglichkeit
2. Die biologische Wertigkeit.

Beispielsweise stellt der Abbau der Frauenmilchproteine an die Verdauung beim Säugling weit geringere Anforderungen als der der Kuhmilchproteine.

Optimale Verhältnisse liegen dann vor, wenn in einer Nahrung neben essentiellen Aminosäuren eine ausreichende Menge an geeigneten nicht-essentiellen Aminosäuren zugeführt wird.

W.C. Rose (14) prägte den Begriff der essentiellen, d.h. für den normalen Ablauf der Lebensvorgänge absolut notwendigen, jedoch vom Organismus nicht selbst synthetisierbaren Aminosäuren. Nach ihm sind folgende Aminosäuren essentiell: Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan und Valin. Snyderman fügte für das Kind Histidin hinzu. Kofrány, Jekat et al. (15) wiesen Arginin als essentielle Aminosäure nach.

Das Plasmaaminogramm von Reifgeborenen ist laut Snyderman (2) dem des Frühgeborenen sehr ähnlich, insbesondere Taurin, Hydroxyprolin und Ornithin sind höher als in späteren Lebensabschnitten. Lindblad fand wie Snyderman als Charakteristikum im Plasmaaminogramm Frühgeborener einen höheren Tyrosin- und Taurinspiegel und ein langsames Abfallen des Phenylalaninspiegels als bei Reifgeborenen.

Bei der parenteralen Ernährung ist es besonders wichtig, die geeignete Menge und Zusammensetzung von Aminosäurelösungen für den jeweiligen Stoffwechsel des Früh- oder Reifgeborenen zu finden.

Die vorliegende Arbeit soll durch quantitative Bestimmung von freien Aminosäuren im Plasma von Frühgeborenen und Reifgeborenen einen Beitrag zur Verwertung von Eiweiß in künstlich zusammengestellter Nahrung liefern.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A METHODIK

I AUSWAHL DER NEUGEBORENE

Die Untersuchung umfaßte 67 Kinder mit insgesamt 512 Aminosäurenanalysen. Sie wurden folgendermaßen aufgeteilt:

Gruppe I

Frühgeborene

Untergruppe A 1: 9 Kinder (5 Jungen, 4 Mädchen),
hiervon 4 Frühgeborene 2001-2500 g, 3 Frühgeborene
1501-2000 g, 2 small for dates

Nahrung: 3 Tage nur Glucose 5% (65-100 ml/kg/die)
mit Elektrolytzusatz, dann
Glucose 5% und zunehmende Menge Frauenmilch
(gefriergetrocknet)

Blutentnahmen erfolgten am 1.-3., 4.-6., 7.-11. Lebenstag.

Untergruppe A 2: 9 Kinder (5 Jungen, 4 Mädchen),
hiervon 3 Frühgeborene 2100-2500 g, 2 Frühgeborene
1501-2000 g, 2 Frühgeborene 1500 g und weniger, 2 small for
dates

Nahrung: 3 Tage nur Glucose 5% (65-100 ml/kg/die)
mit Elektrolytzusatz, dann
Glucose 5% und zunehmende Menge Multival ff 16

Blutentnahmen erfolgten am 1.-3., 4.-6., 7.-11. Lebenstag.

Untergruppe B: 7 Kinder (2 Jungen, 5 Mädchen), hiervon
2 Frühgeborene 2001-2500 g, 3 Frühgeborene 1501-2000 g,
2 Frühgeborene 1500 g und weniger

Nahrung: 2 Tage Glucose 5%, dann 3 Tage Aminosteril KE päd
(Fresenius) in einer Dosierung von 100 mg/kg/die,
dann Frauenmilch (gefriergetrocknet)

Blutentnahmen erfolgten am 1.-2., 3.-5., 6.-11. Lebenstag.

Untergruppe C 1: 13 Kinder (5 Jungen, 8 Mädchen),
hiervon 8 Frühgeborene 2001-2500 g, 1 Frühgeborenes
1500-2000 g, 4 small for dates

Nahrung: sofort Frauenmilch (gefriergetrocknet)

Blutentnahmen erfolgten am 1. Lebenstag geraume Zeit vor
der ersten Fütterung (Nullwert), 1.-2., 6.-11. Lebenstag.

Untergruppe C 2: 10 Kinder (4 Jungen, 6 Mädchen),
hiervon 8 Frühgeborene 2001-2500 g, 1 Frühgeborenes
1501-2000 g, 1 small for dates

Nahrung: sofort Multival ff 16

Blutentnahmen erfolgten am 1. Lebenstag (Nullwert),
1.-2., 6.-10. Lebenstag.

Gruppe II

Reifgeborene

Untergruppe 1: 11 Reifgeborene 2501-4000 g
(5 Jungen, 6 Mädchen)

Nahrung: sofort Frauenmilch

Blutentnahmen erfolgten am 1.-2., 4.-6., 7.-11. Lebenstag.

Untergruppe 2: 8 Reifgeborene 2501-4000 g
(5 Jungen, 3 Mädchen)

Nahrung: sofort Multival ff 16

Blutentnahmen erfolgten am 1.-2., 6.-10. Lebenstag.

Alle Kinder, die an geraden Tagen aufgenommen wurden, wurden
einer Frauenmilch-Gruppe zugeteilt, alle Kinder mit ungeradem
Aufnahmedatum einer Multival ff 16-Gruppe.

Die Blutentnahmen erfolgten jeweils unmittelbar vor dem ersten
Füttern und drei Stunden danach, bei Kindern mit Infusionen
vor Anlage der Infusion und drei Stunden danach. Orientierende
Untersuchungen, die mit einer adaptierten 2/3 Milch (Pomila)
mit 20 Kindern (13 Jungen, 7 Mädchen), hiervon 11 Reifgeborene
2501-4000 g, 6 Frühgeborene 2001-2500 g, 3 small for dates,
durchgeführt wurden, schlossen die Arbeit ab.

II PROTEINGEHALT DER VERWENDETEN NATÜRLICHEN UND KÜNSTLICHEN NAHRUNG

Frauenmilch enthält durchschnittlich	1,2 g% Protein,
Multival ff 16	2,1 g% Protein,
Aminosteril KE päd	2,0 g% L-Aminosäuren,
Pomila	1,6 g% Protein.

In den nachfolgenden Tabellen sind die Aminosäuren in mg % angegeben.

Tabelle 1

Milchart	Aminosäuren						
	Tyr	Phe	His	Val	Meth	Ile	Leu
FM·E.Schwerdtfeger	-	54.0	?	71.5	25.4	62.0	138.3
Multival ff 16	-	72.8	39.5	100.8	39.2	77.0	142.8
Aminosteril KE-päd	-	102	60	124	86	100	148
Pomila	-	60	34	90	36	80	128

Die Angaben über Protein in Frauenmilch haben wir nach Snyderman (2) aufgeführt.

Hinsichtlich des Aminosäuregehalts der Frauenmilch verwendeten wir die Angaben von Schwerdtfeger (12).

Bei den industriell hergestellten Produkten Multival ff 16, Aminosteril KE päd und Pomila sind die Angaben der Firmen übernommen worden.

Tyrosin wurde nicht aufgeführt, da es erst als Abbauprodukt von Phenylalanin im Serum erscheint.

III NORMALWERTE DER AMINOSÄUREN NACH VERSCHIEDENEN PUBLIKATIONEN

Tabelle 2

Normalwerte	Tyr	Phe	His	Val	Meth	Ile	Leu
I							
bei Frühgeborenen (3-40 Tage)	1,24	0,6	1,0	1,3	0,26	0,41	0,87
nach Snyderman	3,49	0,9	1,18	2,0	0,34	0,67	1,39
II							
bei Reifgeborenen ($\leq$ 17 Std)	1,26	1,3	1,19	1,6	0,44	0,52	0,95
nach Dickinson							
III							
bei Reifgeborenen (48 Std)	2,5	0,89	1,41	1,54	0,36	0,63	0,99
nach Ghadimi							
IV							
bei Reifgeborenen (12-48 Std)	1,27	1,0	1,01	1,35	0,3	0,45	0,95
nach Snyderman							
V							
bei Reifgeborenen (3 Tage-5 Mon)	1,44	0,76	0,91	1,77	0,31	0,59	1,3
nach Snyderman	1,76	0,99	1,2	2,67	0,35	0,93	1,64

Die oben angegebenen "Normalwerte" verschiedener Autoren (16,18,19) sollen mit den Untersuchungsergebnissen verglichen werden.

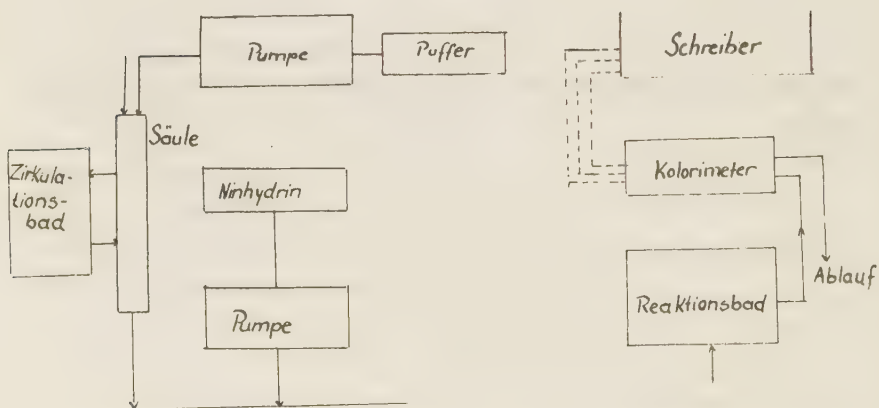
IV QUANTITATIVE BESTIMMUNG DER UNTERSUCHTEN AMINOSÄUREN

Zur Durchführung der Analysen wurde mit dem Unichrom-Aminosäureanalysator der Firma Beckman gearbeitet.

Funktionsprinzip:

Der Unichrom-Aminosäureanalysator dient zur raschen Identifizierung und exakten quantitativen Bestimmung von Aminosäuren und anderen ninhydrin-positiven Verbindungen in Gemischen mit Hilfe der Ionenaustauscherchromatographie nach dem von Spackmann, Stein und Moore (25) entwickelten Verfahren. Hierbei wird eine auf die Säule aufgebrachte Probe an einem Ionenaustauscherharz bei erhöhter Temperatur aufgetrennt. Zur Elution dienen Citratpuffer bestimmten pH-Wertes, die durch eine Verdrängungspumpe gefördert werden. Der Eluatstrom wird nach Austritt aus der Säule kontinuierlich mit einem gleichfalls durch eine Verdrängungspumpe geförderten Ninhydrinreagenz gemischt. Dieses Gemisch wird

Abb. 1 zeigt schematisch den beschriebenen Strömungsverlauf im Analysator.



(Eine ausführliche Beschreibung des Arbeitsablaufes befindet sich im Anhang)

in einem spiralförmig gewickelten Teflon-Kapillarschlauch durch ein siedendes Wasserbad geleitet, wobei die für die Aminosäuren charakteristische Blau-Violett-Färbung zustandekommt. Nach Austritt aus dem Reaktionsbad strömt das Gemisch durch die Glasküvette eines Durchflußkolorimeters, in welchem die Extinktion der gefärbten Eluatpartien kontinuierlich gemessen wird. Die Messwerte werden von den Photozellen des Kolorimeters aus direkt auf einen Dreikanal-Punktschreiber übertragen. Aus der Reihenfolge sowie der Höhe und der Breite der von diesem Schreiber aufgezeichneten Kurven (peaks) ergibt sich Art und Menge der in der Probe enthaltenen Aminosäuren.

Zur Zuverlässigkeitskontrolle der Analysen wurden die Berechnungen des Mittelwertes und der Standardabweichung herangezogen (20).

Aus den Werten, die für jede Aminosäure bei der jeweiligen Nahrung in einem bestimmten Zeitabschnitt durch die Analysen ermittelt worden waren, wurden statistische Mittelwerte der jeweiligen Meßreihe nach der Formel

$$\bar{X} = \frac{X}{n}$$

gebildet. (X = Einzelwert, n = Zahl der Einzelwerte)

Zur Fehlerkorrektur diente die Berechnung der Standardabweichung nach der Formel

$$S = \sqrt{\frac{(\bar{X} - x)^2}{n-1}}$$

(X-Mittelwert, x= Einzelwert, n = Zahl der Einzelwerte)

Alle Meßergebnisse, die außerhalb der 2s-Grenze liegen, galten als pathologisch und wurden daher ausgeschlossen (13).

Anzahl und Qualität der Untersuchungen wurden durch folgende Störmöglichkeiten eingeschränkt:

1. Blutabnahme nicht zu den genau festgelegten Zeiten
(Der Autor konnte das Blut nicht selbst abnehmen)
2. Zu geringe Menge des entnommenen Blutes; Plasmamenge
reichte dann nicht für die Aminosäurenbestimmung aus
3. Hämolytisches Plasma
4. Unvollständige oder gar keine Beschriftung einiger
Blutentnahmeröhrchen
5. Ungenau~~s~~ und unsauberes Pipettieren führte teilweise
dazu, daß Plasma verworfen werden mußte.
6. Undichte Abschlußringe der Ultrazentrifugenröhren;
dadurch gingen Proben in der Ultrazentrifuge verloren.

Gruppe I Untergruppe A 2 (3 Tage nur Glucose, dann Glucose
und zunehmende Menge Multival ff 16):

TABELLE 4

AS	praep.	n	postp.	n	praep.	n	postp.	n	postp.	n
Tyr	1.56	11	1.39	8	1.65	11	1.70	7	2.69	5
Phe	1.18	12	1.20	8	1.05	11	1.07	7	1.08	5
His	1.76	10	1.39	8	1.16	11	1.16	7	1.71	8
Val	2.16	10	1.58	8	1.19	10	1.56	8	2.79	7
Meth	0.35	8	0.39	7	0.47	7	0.46	3	0.54	6
Ile	0.59	7	0.43	8	0.33	8	0.36	5	0.71	7
Leu	1.22	9	0.81	8	0.77	11	0.99	7	1.61	8
	1.-3. Tag			4.-6. Tag			7.-11. Tag			

In dieser Tabelle werden die Absolutwerte der Plasmaamino-
säurenkonzentration bei der Ernährung der Probanden der
Untergruppe A₂ vom 1.-11. Tag dargestellt.

Gruppe I Untergruppe B (2 Tage nur Glucose, 3 Tage Aminosteril
KE päd, danach Frauenmilch)

TABELLE 5

AS	praep.	n	postp.	n	praep.	n	postp.	n	praep.	n	postp.	n
Tyr	1.75	7	2.61	4	1.81	4	2.29	5	2.13	4	2.48	5
Phe	1.17	7	1.91	4	1.07	3	1.64	5	1.96	4	1.45	6
His	1.35	7	1.81	4	1.40	3	1.86	5	1.97	4	1.79	6
Val	2.46	6	2.07	4	1.79	4	2.92	5	2.85	3	2.20	6
Meth	0.47	6	0.43	3	0.59	4	1.33	4	1.15	3	0.64	6
Ile	0.64	6	0.61	3	0.33	4	1.05	4	0.63	3	0.54	6
Leu	0.91	6	0.92	3	1.13	4	1.89	4	1.27	3	1.33	6
	1.-2. Tag			3.-5. Tag			6.-11. Tag					

In dieser Tabelle werden die Absolutwerte der Plasmaamino-
säurenkonzentration bei der Ernährung der Probanden der
Untergruppe B vom 1.-11. Tag dargestellt.

Gruppe I Untergruppe C 1 (sofort Frauenmilch)

TABELLE 6

AS	Nüchtern- wert	n	praep	n	postp	n	postp	n
Tyr	1.40	5	1.64	14	2.06	3	2.45	17
Phe	0.89	5	1.06	12	0.95	3	1.20	18
His	1.61	5	1.25	13	0.93	3	1.88	19
Val	1.76	5	1.33	12	1.16	3	2.29	18
Meth	0.36	3	0.31	5	0.35	3	0.42	9
Ile	0.46	4	0.43	6	0.52	3	0.97	11
Leu	0.95	4	0.69	9	0.59	3	1.46	13
0-24 Stunden		1.-2.Tag				6.-11.Tag		

In dieser Tabelle werden die Absolutwerte der Plasmaamino-säurenkonzentration bei der Ernährung der Probanden der Untergruppe C₁ vom 1.-11. Tag einschließlich des Nüchternwertes 0 - 24 Stunden dargestellt.

Gruppe I Untergruppe C 2 (sofort Multival ff 16)

TABELLE 7

AS	Nüchtern- wert	n	praep	n	postp	n	postp	n
Tyr	1.77	6	2.06	5	1.59	3	2.91	15
Phe	1.57	6	1.12	7	0.72	3	1.45	17
His	2.04	6	1.51	6	1.45	3	2.12	15
Val	2.10	7	1.34	8	1.13	3	3.17	18
Meth	0.58	6	0.44	6	0.31	3	0.49	16
Ile	0.54	6	0.50	4	0.30	3	0.76	14
Leu	0.99	7	0.70	7	0.44	3	1.70	14
0-24 Stunden		1.-2.Tag				6.-11.Tag		

In dieser Tabelle werden die Absolutwerte der Plasmaamino-säurenkonzentration bei der Ernährung der Probanden der Untergruppe C₂ vom 1.-11. Tag einschließlich des Nüchternwertes 0-24 Stunden dargestellt.

ERNÄHRUNG DER REIFGEBORENEN

Gruppe II

Untergruppe 1 (sofort Frauenmilch)

TABELLE 8

AS	praep	n	postp	n	postp	n	postp	n
Tyr	1.55	8	1.28	4	1.31	4	1.36	6
Phe	1.16	8	1.12	4	0.77	4	0.78	6
His	1.92	8	1.76	4	1.24	4	1.46	6
Val	2.02	9	1.93	3	1.64	4	1.80	7
Meth	0.45	8	0.36	3	0.37	4	0.31	4
Ile	0.54	8	0.44	3	0.46	4	0.43	6
Leu	1.11	9	0.79	3	1.21	4	1.22	7
	1.-2.Tag				4.-6.Tag		7.-11Tag	

In dieser Tabelle werden die Absolutwerte der Plasmaamino-säurenkonzentration bei der Ernährung der Probanden der Untergruppe 1 vom 1.-11. Tag dargestellt.

Gruppe II Untergruppe 2 (sofort Multival ff 16)

TABELLE 9

AS	Nüchtern- wert	n	praep	n	postp	n	postp	n
Tyr	1.34	6	1.68	3	1.61	6	1.77	14
Phe	1.11	6	1.70	3	1.45	6	1.35	14
His	1.78	6	2.29	3	1.71	6	1.82	12
Val	2.31	4	1.68	3	1.15	6	2.66	15
Meth	0.35	3	0.88	3	0.38	3	0.48	14
Ile	0.53	3	1.06	3	0.18	3	0.64	14
Leu	0.94	4	1.43	3	0.47	3	1.60	14
	0-24 Stunden		1.-2.Tag			6.-10.Tag		

In dieser Tabelle werden die Absolutwerte der Plasmaamino-säurenkonzentration bei der Ernährung der Probanden der Untergruppe 2 vom 1.-10. Tag einschließlich des Nüchternwertes 0-24 Stunden dargestellt.

PLASMAAMINOSÄURENKONZENTRATIONEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DEN EINGEGEBENEN NAHRUNGSAMINOSÄUREN

GRUPPE I A₁ (s. Tabelle 3)

Frühgeborene

Nachstehend sind für die verschiedenen Zeiträume vom höchsten bis zum niedrigsten Wert absteigend sowohl die Plasmaamino-säurenkonzentrationen angegeben als auch die Konzentrationen der mit der Nahrung gefütterten Aminosäuren.

1.-3. Tag: <u>PAS präp.</u>	<u>PAS postp.</u>	<u>Nahrungs-AS</u>
Histidin + Valin	Valin	keine
Tyrosin	Tyrosin	
Phenylalanin	Histidin	
Leucin	Phenylalanin	
Isoleucin	Leucin	
Methionin	Isoleucin	
	Methionin	

4.-6. Tag:

		<u>(Frauenmilch)</u>
Tyrosin	Tyrosin	Leucin
Valin	Valin	Valin
Histidin	Phenylalanin	Isoleucin
Phenylalanin	Histidin	Phenylalanin
Leucin	Leucin	Methionin
Methionin	Methionin	Histidin
Isoleucin	Isoleucin	

7.-11. Tag:

		<u>(Frauenmilch)</u>
Valin	Valin	Leucin
Histidin	Leucin	Valin
Tyrosin	Tyrosin	Isoleucin
Leucin	Histidin	Phenylalanin
Isoleucin	Phenylalanin	Methionin
Phenylalanin	Isoleucin	Histidin
Methionin	Methionin	

Die Angaben über die Frauenmilch-Aminosäuren beruhen auf Untersuchungen von Schwerdtfeger (Tabelle 1).

Aussagen über die Histidingabe in mg% macht Schwerdtfeger nicht. Es ist jedoch den Angaben von Snyderman (2), zu entnehmen, daß Histidin in der Rangfolge den letzten Platz einnimmt.

Tyrosin erscheint in der Angabe von FM nicht, weil der Bedarf von Tyrosin aus dem Abbau von Phenylalanin gedeckt wird.

Gruppe I A₂ (s. Tabelle 4)

1.-3. Tag:	<u>PAS präp.</u>	<u>PAS postp.</u>	<u>Nahrungs-AS</u>
	Valin	Valin	keine
	Histidin	Histidin + Tyrosin	
	Tyrosin	Phenylalanin	
	Leucin	Leucin	
	Phenylalanin	Isoleucin	
	Isoleucin	Methionin	
	Methionin		

4.-6. Tag:

			<u>(Multival ff 16)</u>
	Tyrosin	Tyrosin	Leucin
	Valin	Valin	Valin
	Histidin	Histidin	Isoleucin
	Phenylalanin	Phenylalanin	Phenylalanin
	Leucin	Leucin	Histidin
	Methionin	Methionin	Methionin
	Isoleucin	Isoleucin	

7.-11. Tag:

			<u>(Multival ff 16)</u>
	präp.	Valin	Leucin
	Werte	Tyrosin	Valin
	lagen	Histidin	Isoleucin
	nicht	Leucin	Phenylalanin
	vor	Phenylalanin	Histidin
		Isoleucin	Methionin
		Methionin	

Gruppe I B

(s. Tabelle 5)

1.-2. Tag:

<u>PAS präp.</u>	<u>PAS postp.</u>	<u>Nahrungs-AS</u>
Valin	Tyrosin	keine
Tyrosin	Valin	
Histidin	Phenylalanin	
Phenylalanin	Histidin	
Leucin	Leucin	
Isoleucin	Isoleucin	
Methionin	Methionin	

3.-5. Tag:

		<u>(Aminosteril KE päd)</u>
		<u>Leucin</u>
Tyrosin	Valin	
Valin	Tyrosin	Valin
Histidin	Leucin	Phenylalanin
Phenylalanin	Phenylalanin	Methionin
Methionin	Methionin	Histidin
Isoleucin	Isoleucin	

6.-11. Tag:

		<u>(Frauenmilch)</u>
Valin	Tyrosin	Leucin
Tyrosin	Valin	Valin
Histidin	Histidin	Isoleucin
Phenylalanin	Phenylalanin	Phenylalanin
Leucin	Leucin	Methionin
Methionin	Methionin	Histidin
Isoleucin	Isoleucin	

Gruppe I C₁

(s. Tabelle 6)

0-24 Stunden (Nüchternwert)

<u>PAS präp.</u>	<u>PAS postp.</u>	<u>Nahrungs-AS</u>
Valin		keine
Histidin		
Tyrosin		
Leucin		
Phenylalanin		
Isoleucin		
Methionin		

1.-2. Tag:

<u>PAS präp.</u>	<u>PAS postp.</u>	<u>(Frauenmilch)</u>
Tyrosin	Tyrosin	Leucin
Valin	Valin	Valin
Histidin	Phenylalanin	Isoleucin
Phenylalanin	Histidin	Phenylalanin
Leucin	Leucin	Methionin
Isoleucin	Isoleucin	Histidin
Methionin	Methionin	

6.-11. Tag:

<u>PAS postp.</u>	<u>(Frauenmilch)</u>
Tyrosin	Leucin
Valin	Valin
Histidin	Isoleucin
Leucin	Phenylalanin
Phenylalanin	Methionin
Isoleucin	Histidin
Methionin	

Gruppe IC₂

(s. Tabelle 7)

	<u>PAS präp.</u>	<u>PAS postp.</u>	<u>Nahrungs-AS</u>
1. Tag (Nüchternwert)			
	Valin		keine
	Histidin		
	Tyrosin		
	Phenylalanin		
	Leucin		
	Methionin		
	Isoleucin		
1.-2. Tag:	<u>PAS präp.</u>	<u>PAS postp.</u>	<u>(Multival ff 16)</u>
	Tyrosin	Tyrosin	Leucin
	Histidin	Histidin	Valin
	Valin	Valin	Isoleucin
	Phenylalanin	Phenylalanin	Phenylalanin
	Leucin	Leucin	Histidin
	Isoleucin	Isoleucin	Methionin
	Methionin	Methionin	
6.-11. Tag:			<u>(Multival ff 16)</u>
		Valin	Leucin
		Tyrosin	Valin
		Histidin	Isoleucin
		Leucin	Phenylalanin
		Phenylalanin	Histidin
		Isoleucin	Methionin
		Methionin	

REIFGEBORENE

Gruppe II1

(s. Tabelle 8)

1.-2. Tag:

<u>PAS präp.</u>	<u>PAS postp.</u>	<u>Nahrungs-AS</u>
Valin	Valin	Leucin
Histidin	Histidin	Valin
Tyrosin	Tyrosin	Isoleucin
Phenylalanin	Phenylalanin	Phenylalanin
Leucin	Leucin	Methionin
Isoleucin	Isoleucin	Histidin
Methionin	Methionin	

4.-6. Tag:

	<u>(Frauenmilch)</u>
Valin	Leucin
Tyrosin	Valin
Histidin	Isoleucin
Leucin	Phenylalanin
Phenylalanin	Methionin
Isoleucin	Histidin
Methionin	

7.-11. Tag:

	<u>(Frauenmilch)</u>
Valin	Leucin
Histidin	Valin
Tyrosin	Isoleucin
Leucin	Phenylalanin
Phenylalanin	Methionin
Isoleucin	Histidin
Methionin	

Gruppe II₂

(s. Tabelle 9)

	<u>PAS präp.</u>	<u>PAS postp.</u>	<u>Nahrungs-AS</u>
1. Tag (Nüchternwert)	Valin Histidin Tyrosin Phenylalanin Leucin Isoleucin Methionin		keine
1.-2. Tag:			(<u>Multival ff 16</u>)
	Histidin Phenylalanin Tyrosin+Valin Leucin Isoleucin Methionin	Histidin Tyrosin Phenylalanin Valin Leucin Isoleucin Methionin	Leucin Valin Isoleucin Phenylalanin Histidin Methionin
6.-10. Tag:			(<u>Multival ff 16</u>)
		Valin Histidin Tyrosin Leucin Phenylalanin Isoleucin Methionin	Leucin Valin Isoleucin Phenylalanin Histidin Methionin

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Unabhängig von der Nahrung lagen die Nüchternwerte und die Werte bis zum 3. Tag von Valin, Histidin und Tyrosin besonders hoch in der Reihenfolge der untersuchten Plasmaamino-säuren. Das entspricht auch den Untersuchungen von Dickinson (Tabelle 2).

Bei Frühgeborenen fanden wir für Valin die höchste Konzentration, wenn sie noch keine Nahrung oder nur Glucose erhalten hatten.

Wurde jedoch proteinhaltige Nahrung gegeben, rückte sofort Tyrosin an die erste Stelle (Gruppe I, Untergruppen C1 und C2). Bei allen Nahrungen erreichte der Tyrosinspiegel der Frühgeborenen am 4.-6. Tag den höchsten Rang im Plasmaamino-säurenspiegel.

Die Tendenz einer Erhöhung des Tyrosinspiegels ist bei Frühgeborenen bis zum 11. Tag weiterhin sichtbar, während am 4.-6. Tag bei den Reifgeborenen weiterhin der Valinspiegel am höchsten bleibt.

Das entspricht den Normalwertuntersuchungen von Snyderman (Tabelle 2) und bestätigt die Feststellungen von Snyderman (2) und Lindblad (17) über den erhöhten Tyrosinspiegel von Frühgeborenen, die Snyderman dazu veranlaßten, Tyrosin als essentielle Aminosäure für Frühgeborene zu deklarieren. Die Angaben von Lindblad (26) über einen langsameren Abfall des Phenylalaninspiegels bei Frühgeborenen als bei Reifgeborenen wurden durch die vorliegenden Untersuchungen nicht bestätigt.

Wenn auch hohe Proteingaben eine erhöhte Plasmaamino-säurenkonzentration bewirken, so entspricht die Menge der eingegebenen Nahrungsamino-säure nicht der Menge der im Plasma auffindbaren Aminosäure; beispielsweise ist bei Frühgeborenen in den Tagen 6-9 bei sofortiger Frauenmilchgabe 0,12 mg% mehr Isoleucin und 0,07 mg% mehr Leucin im Plasmaamino-säuren-spiegel enthalten als bei sofortiger Multivalgabe, obwohl Multival 15 mg% mehr Isoleucin und 4,5 mg% mehr Leucin enthält als Frauenmilch.

Leucin erscheint niemals an den ersten Rangstellen des Plasmaamino-säurenspiegels, obwohl die Leucinmenge aller untersuchten Nahrungen die höchste aller untersuchten Aminosäuregaben war.

Bei Frühgeborenen ist der Phenylalaninspiegel der Tage 6-9 nach Gabe von Pomila um 0,37 mg% höher als nach Multivalgabe, obwohl Multival 12,8 mg% mehr Phenylalanin enthält als Pomila.

Bei Reifgeborenen dagegen entspricht die höhere Aminosäurengabe immer einem höheren Plasmaamino-säurenspiegel.

Ein Vergleich der einzelnen Ergebnisse mit bereits publizierten Normalwerten von Snyderman, Dickinson und Ghadimi (Tabelle 2) zeigt folgende Unterschiede:

- (Zeichenerklärung: + : höher als der höchste entsprechende Wert aus der Vergleichstabelle
- : niedriger als der niedrigste entsprechende Wert aus der Vergleichstabelle
= : innerhalb des entsprechenden Wertbereichs der Vergleichstabelle)

FRÜHGEBORENE

Gruppe I A 1

	1.-3. Tag	4.-6. Tag	7.-11. Tag
Tyrosin		=	=
Phenylalanin		+ 0,48	=
Histidin		+ 0,14	+ 0,43
Valin		+ 0,05	+ 0,10
Methionin		+ 0,06	- 0,09
Isoleucin		- 0,12	+ 0,04
Leucin		=	+ 0,34

Gruppe I A 2

	1.-3. Tag	4.-6. Tag	7.-11. Tag
Tyrosin		=	=
Phenylalanin		+ 0,17	+ 0,18
Histidin		=	+ 0,53
Valin		=	+ 0,79
Methionin		+ 0,12	+ 0,20
Isoleucin		- 0,05	+ 0,04
Leucin		=	+ 0,29

Gruppe IB

	3.-5. Tag	6.-11. Tag
Tyrosin	=	=
Phenylalanin	+ 0,74	+ 0,55
Histidin	+ 0,68	+ 0,61
Valin	+ 0,92	+ 0,20
Methionin	+ 0,99	+ 0,30
Isoleucin	+ 0,38	=
Leucin	+ 0,50	=

Gruppe IC₁

	6.-11. Tag
Tyrosin	=
Phenylalanin	+ 0,30
Histidin	+ 0,70
Valin	+ 0,29
Methionin	+ 0,08
Isoleucin	+ 0,30
Leucin	+ 0,07

Gruppe IC₂

	6.-11. Tag
Tyrosin	=
Phenylalanin	+ 0,55
Histidin	+ 0,94
Valin	+ 1,17
Methionin	+ 0,13
Isoleucin	+ 0,09
Leucin	+ 0,31

Bei Frühgeborenen werden die "Normalwerte" immer erreicht beziehungsweise überschritten, wenn sofort nach der Geburt eine proteinhaltige Nahrung gefüttert wird.

Wird in den ersten Tagen nach der Geburt nur Glucose verabreicht, liegt bei anschließender Frauenmilchernährung am 4.-6. Tag der Isoleucinwert, am 7.-11. Tag der Methioninwert unterhalb der Normalwertgrenze von Snyderman.

Durch das Absinken des Isoleucinwerts unter den Normalwert bei gleichem Leucinwert und nur geringfügig über dem Normalwert liegendem Valinwert wird die bereits von Lindblad (27) erwähnte Tendenz der "branch-chained Aminosäuren", in den ersten Lebenstagen bei fehlender Proteingabe abzusinken, verdeutlicht.

Da "eine Kette bekanntlich nur so stark ist wie ihr schwächstes Glied", wirkt sich der Mangel an einer essentiellen Aminosäure limitierend für die Verwertung der Nahrungseiweiße zum Aufbau körpereigener Proteine aus (Schmidt 28). Die Ernährung von Frühgeborenen mit Glucose und anschließend Frauenmilch ist demnach für die ersten Tage, gemessen an den Normalwerten von Snyderman (Tabelle 2) unzureichend. Daß dies ausschließlich der Glucosegabe zuzuschreiben ist, ist an den Untersuchungswerten nach Frauenmilchgabe von Geburt an zu erkennen, die sämtlich die Normalwerte erreichen (Tyrosin) beziehungsweise überschreiten.

Bei Ernährung mit Glucose und anschließend Multival ff 16 (IA₂) ist an den Tagen 4-6 ebenfalls der Isoleucinspiegel unter der Normalwertgrenze von Snyderman anzutreffen, Valin- und Leucinspiegel sind gleich. Auch hier zeigt sich die mangelhafte Proteinversorgung in einem niedrigen Wert der branch-chained-Aminosäuren. Am 7.-11. Tag ist dieses Defizit jedoch bereits aufgeholt.

Bei Ernährung mit Glucose, anschließend Aminosteril KE päd. (IB) und schließlich Frauenmilch ist in den Tagen 3-5 der Wert aller Aminosäuren bis auf Tyrosin (innerhalb der Normalwertgrenzen) erheblich höher als der Normalwert.

Hier zeichnen sich die sehr hohen Proteingaben des Aminosteril KE päd und die schnelle Wirkung auf den Plasmaamino­säuren­spiegel durch die kurze Halbwertszeit von nur einem Tag ab.

Der anfängliche Abfall des Plasmaamino­säuren­spiegels durch die Glucoseernährung wird bei dieser parenteralen Nahrung schnell ausgeglichen.

Bei anschließender Frauenmilchgabe sinken die sehr hohen Plasmaamino­säuren­werte allmählich wieder in die Nähe der Snydermanschen Normalwerte.

Ob sehr hohe Proteingaben optimal sind, ist, wie bereits erwähnt, umstritten.

Schmidt (9) plädiert dafür, weil sie seiner Meinung nach, solange sie den Organismus nicht belasten, keine Nachteile für den Säugling bringen.

Lindblad (27) dagegen befürchtet gerade bei hypotrophen Neugeborenen nach hohen Proteingaben einen hypoglykämischen Schock.

Da jedoch eine parenterale Ernährung nicht für die Dauer bestimmt ist, sondern kurzfristig Mängel abdecken soll, ist, solange durch Untersuchungen keine Schäden als Folge der verhältnismäßig hohen Proteinzufuhr des Aminosteril KE päd nachzuweisen sind, eine parenterale Ernährung mit Aminosteril KE päd als besonders hilfreich für Frühgeborene in den ersten Lebenstagen anzusehen.

Wenn von Geburt an proteinhaltige Nahrung gegeben wird, werden die Normalwerte von Snyderman stets erreicht oder überschritten, wobei die Werte von Multival ff 16 höher liegen als die Werte von Frauenmilch.

REIFGEBORENE

Gruppe II₁

1.-2. Tag:	vs. Dickinson	vs. Ghadimi	vs. Snyderman
Tyrosin	+ 0,02	- 1,22	+ 0,01
Phenylalanin	- 0,18	+ 0,23	+ 0,12
Histidin	+ 0,57	+ 0,35	+ 0,75
Valin	+ 0,33	+ 0,39	+ 0,58
Methionin	- 0,08	=	+ 0,06
Isoleucin	- 0,08	- 0,19	- 0,01
Leucin	- 0,16	- 0,20	- 0,16

Für den 4.-6. und 7.-11. Tag ist nur der Vergleich mit Snyderman möglich.

	4.-6. Tag	7.-11. Tag
Tyrosin	- 0,13	- 0,08
Phenylalanin	=	=
Histidin	+ 0,04	+ 0,26
Valin	- 0,13	=
Methionin	+ 0,02	=
Isoleucin	- 0,13	- 0,16
Leucin	- 0,09	- 0,08

Gruppe II₂

1.-2. Tag:	vs. Dickinson	vs. Ghadimi	vs. Snyderman
Tyrosin	+ 0,35	- 0,89	+ 0,34
Phenylalanin	+ 0,15	+ 0,56	+ 0,45
Histidin	+ 0,52	+ 0,30	+ 0,70
Valin	- 0,45	- 0,39	- 0,20
Methionin	- 0,06	+ 0,02	+ 0,08
Isoleucin	- 0,34	- 0,45	- 0,27
Leucin	- 0,48	- 0,52	- 0,48

Für den 6.-10. Tag ist nur der Vergleich mit Snyderman möglich.

	6.-10. Tag
Tyrosin	+ 0,01
Phenylalanin	+ 0,36
Histidin	+ 0,62
Valin	=
Methionin	+ 0,13
Isoleucin	=
Leucin	=

Bei Reifgeborenen, die mit Frauenmilch ernährt wurden, waren weder am 1.-2. Tag die Normalwerte aller Plasmaamino-säuren, verglichen mit Dickinson, Ghadimi und Snyderman erreicht noch am 4.-6. und 7.-11. Tag alle Normalwerte von Snyderman.

Bei der Ernährung mit Multival zeigten sich an den ersten beiden Tagen noch Minuswerte, jedoch waren an den Tagen 6-10 die Snydermanschen Normalwerte aller Plasmaamino-säuren erreicht oder überschritten.

Dies sollte aber nicht etwa Veranlassung dazu geben, Frauenmilch als nicht ausreichend für die Ernährung Reifgeborener zu betrachten, sondern eher Veranlassung zur Aufstellung einer niedrigeren Normalwerttabelle geben, da die Tatsache, daß Frauenmilch durchaus den Proteinbedarf Reifgeborener deckt, durch gutes Gedeihen der mit Frauenmilch ernährten Säuglinge bewiesen ist.

VERGLEICH DER PLASMAAMINOSÄURENKONZENTRATION
VON FRÜHGEBORENEN IM ALTER VON 6-9 BZW.
10 TAGEN BEI VERSCHIEDENER ERNÄHRUNG

Es wurden einander gegenübergestellt

- Gruppe I A₁ (3 Tage Glucose, dann Frauenmilch)
Gruppe I A₂ (3 Tage Glucose, dann Multival ff 16)
Gruppe I B (2 Tage Glucose, 3 Tage Aminosteril
KE päd. gleichzeitig Glucose, dann
Frauenmilch)
Gruppe I C₁ (sofort Frauenmilch)
Gruppe I C₂ (sofort Multival ff 16)
Probanden von Snyderman (2)
Probanden, die sofort mit Pomila gefüttert wurden.

Die Werte von Multival ff 16 wurden = 100% gesetzt.

TABELLE 10

Aminosäuren	Diff.in % Kuhmilch	Diff.in % FM	Diff.in % Glucose- Amino-FM	Diff.in % Glucose- Multival	Diff.in % Glucose- FM	Diff.in % Pomila
Tyrosin	- 12,30	- 8,97	- 2,51	- 36,96	- 42,05	- 19,29
Phenylalalin	- 27,61	- 6,27	+ 21,76	- 3,54	- 29,38	+ 26,05
Histidin	- 39,95	- 17,77	- 7,62	- 32,01	- 29,86	- 9,18
Valin	- 31,57	- 28,29	- 10,69	- 28,69	- 31,43	- 43,60
Methionin	- 34,84	- 23,43	+ 3,89	- 24,88	- 56,08	- 3,47
Isoleucin	- 12,87	+ 16,93	- 24,29	- 51,80	- 15,26	- 23,39
Leucin	- 14,97	+ 4,23	- 21,13	- 36,52	+ 1,6073	- 24,78

Die Absolutwerte sind der Tabelle 11 zu entnehmen; zum Vergleich der Plasmaamino-säurenspiegel wurde von relativen Werten ausgegangen, wobei Multival ff 16 = 100% gesetzt wurde.

VERGLEICH DER PLASMAAMINOSÄURENSPIEGEL
VON REIFGEBORENEN IM ALTER VON 6-9 BZW.
10 TAGEN BEI VERSCHIEDENER ERNÄHRUNG

Es wurden gegenübergestellt:

Gruppe II₁ (sofort Frauenmilch)

Gruppe II₂ (sofort Multival ff 16)

Probanden von Snyderman (2)

Probanden, die sofort mit Pomila gefüttert wurden.

TABELLE 12

Aminosäuren	Diff.in % FM-synthe- tisch (Snyderman)	Diff.in % FM-Multival ff 16	Diff.in % FM-Pomila
Tyrosin	+ 17,24	+ 23,42	- 6,53
Phenylalanin	+ 12,73	+ 62,63	+ 44,06
Histidin	- 25,43	+ 51,61	+ 16,99
Valin	- 5,35	+ 42,69	- 7,50
Methionin	+ 11,47	+ 59,33	+ 34,80
Isoleucin	+ 16,46	+ 34,72	+ 14,46
Leucin	- 4,21	+ 13,88	- 6,43

Die Absolutwerte sind der Tabelle 13 zu entnehmen; zum Vergleich der Plasmaamino-säurenspiegel wurde von relativen Werten ausgegangen, wobei Frauenmilch = 100% gesetzt wurde. Generell mehr Plasmaamino-säuren konnten bei sofortiger Fütterung mit Multival ff 16 festgestellt werden.

Bei sofortiger Fütterung von Pomila lagen die Werte für Phenylalanin und Methionin deutlich höher, Histidin und Isoleucin unwesentlich höher, Tyrosin, Valin und Leucin waren geringfügig erniedrigt.

Wurde synthetische Nahrung (Snyderman) gefüttert, waren Tyrosin, Phenylalanin, Methionin und Isoleucin unwesentlich erhöht, Valin und Leucin geringfügig erniedrigt, Histidin deutlich erniedrigt. Vergleicht man die Absolutwerte bei gleicher Fütterung von Früh- und Reifgeborenen, so ist bei sofortiger Multival ff 16 Gabe, mit Ausnahme von Tyrosin (bei Frühgeborenen deutlich erhöht), kein wesentlicher Unterschied in der Plasmaamino-säurenkonzentration festzustellen; im Unterschied dazu haben Frühgeborene bei sofortiger Frauenmilchernährung insgesamt einen höheren Plasmaamino-säurenspiegel als Reifgeborene, wobei besonders auffällt, daß der Plasmaleucin- und Plasmaisoleucinspiegel bei Frühgeborenen nach Fütterung mit Frauenmilch höher ist als nach Fütterung mit Multival ff 16, während dieses Phänomen bei Reifgeborenen nicht auftritt. Daraus ergibt sich, daß Frauenmilch nur für Frühgeborene als Leucinauflader wirkt, für Reifgeborene jedoch nicht.

TABELLE 13

REIFGEBORENE

AS	mg%	n	mg%	n	mg%	n	mg%	n
Tyr	1.77	12	1.43	7	1.34	6	1.68	8
Phe	1.35	14	0,83	7	1.20	7	0,94	8
His	1.99	12	1.31	6	1,84	7	0,98	8
Val	2.66	15	1.87	7	1.73	6	1.77	8
Meth	0.48	14	0.30	6	0.41	7	0.34	8
Ile	0.68	13	0.51	7	0.58	7	0.59	8
Leu	1.54	13	1.36	7	1.27	7	1.30	8
	II ₂ 6.-10. Tag		II ₁ 6.-10. Tag		Pomila 6.-9. Tag		Snyderman 2.-13. Tag	

VERGLEICH DER POSTPRANDIALEN PLASMAAMINOSÄURENKONZENTRATIONEN MIT DEN NÜCHTERNWERTEN

Wie aus den Schaubildern im Anhang ersichtlich, lagen bei Frühgeborenen die praeprandialen Werte der Tage 1-3 bzw. Nüchternwerte (0-24 Stunden) der Plasmaamino-säuren höher als die postprandialen Werte aus dem gleichen Zeitraum. Eine Ausnahme bildet die Gruppe IB, bei der im Gegensatz zu den Gruppen IA₁ und IA₂ nur zwei Tage lang Glucose vor-gefüttert wurde. Hier lagen die postprandialen Werte von Tyrosin, Phenylalanin und Histidin höher als die praeprandialen Werte. Grundsätzlich kann gesagt werden, daß, gleich, welche Nahrung gefüttert wird, der Plasmaamino-säurenspiegel in den ersten Lebenstagen absinkt; jedoch liegen nach den ersten zehn Lebenstagen die Plasmaamino-säurenspiegel bei allen Kindern der Gruppen, die zunächst nur mit Glucose gefüttert worden waren, niedriger als bei sofortiger Fütte-rung mit proteinhaltiger Nahrung von Geburt an. Daraus ist ersichtlich, daß Änderungen des Plasmaamino-säurenspiegels in den ersten Lebenstagen nicht ausschließlich auf die Wir-kung der Nahrungsamino-säuren zurückgeführt werden dürfen, sondern nur die Tendenz eines fallenden oder steigenden Plasmaamino-säurenspiegels wiedergeben. Welche Erhöhung des Plasmaamino-säurenspiegels eine Nahrung bewirkt, ist erst im Laufe der ersten zehn Lebenstage eindeutig fest-zustellen. Demnach ist es bedenklich, Frühgeborene in den ersten Lebenstagen ausschließlich mit Glucose zu ernähren, weil eine solche proteinlose Ernährung im Gegensatz zu ihrem erhöhten Proteinbedarf steht.

Vergleicht man im Einzelnen bei Frühgeborenen die post-prandialen Plasmaamino-säurenspiegel (Tabellen 3,4,6,7,13) bei unterschiedlicher Fütterung und an verschiedenen Tagen und setzt sie mit den Nüchternwerten der Gruppen IC₁ und IC₂ in Beziehung, so kann man folgende Aussage machen:

Bei den Probanden der Gruppen IA_1 und IA_2 liegen alle Werte am 1-3 Tag unterhalb der Nüchternwerte, am 4-6. Tag liegen bei beiden Gruppen Tyrosin und Leucin, bei IA_1 dazu noch Phenylalanin und Valin über den Nüchternwerten. Die übrigen Plasmaamino-säuren sind bei beiden Gruppen niedriger als die Nüchternwerte. Am 7.-11. Tag liegen bei beiden Gruppen Tyrosin, Isoleucin und Leucin, bei IA_1 dazu noch Valin, bei IA_2 noch Methionin über den Nüchternwerten; die übrigen Plasmaamino-säuren sind bei beiden Gruppen niedriger als die Nüchternwerte.

In den Gruppen IC_1 und IC_2 (1.-2.Tag) liegen Tyrosin, dazu in IC_1 Isoleucin über den Nüchternwerten, die übrigen Plasmaamino-säuren sind niedriger. Am 6.-11. Tag sind Phenylalanin und Methionin in IC_1 geringfügig niedriger, die übrigen Plasmaamino-säuren liegen unter den Nüchternwerten.

Vergleicht man im Einzelnen bei Reifgeborenen die postprandialen Plasmaamino-säuren (Tabellen 8,9,13) bei unterschiedlicher Fütterung und an verschiedenen Tagen und setzt sie mit den Nüchternwerten der Gruppe II_2 in Beziehung, so kann man folgende Aussage machen:

Bei den Probanden der Gruppe II_2 (1.-2.Tag) liegen bis auf Valin alle Werte über den Nüchternwerten; bei der Gruppe II_1 liegen Phenylalanin und Methionin über den Nüchternwerten, die übrigen Plasmaamino-säuren darunter. In der Gruppe II_2 (7.-11. Tag) liegen alle Plasmaamino-säuren über den Nüchternwerten, bei der Gruppe II_1 liegen nur Tyrosin und Leucin über den Nüchternwerten, die übrigen Werte darunter. Bei Probanden, die sofort die adaptierte 2/3 Nahrung (Pomila) erhielten, liegen bis auf Valin (6.-9. Tag) alle Plasmaamino-säuren über den Nüchternwerten.

VERGLEICH DER POSTPRANDIALEN PLASMAAMINOSÄURENKONZENTRATIONEN MIT DEN GEWICHTSZUNAHMEN

Beim Vergleich der postprandialen Plasmaamino-säurenkonzentrationen der letzten Bestimmungstage mit den Gewichtszunahmen gegenüber den Geburtstagen kamen wir zu folgendem Ergebnis:

Bei den Probanden der Gruppen IA_1 und IA_2 (FRÜHGEBORENE) zeigte sich, daß bei der Fütterung mit Multival ff 16 sowohl ein höherer Plasmaamino-säurenspiegel am 7.-11. Tag als auch eine Gewichtszunahme bei einer größeren Anzahl von Probanden festzustellen war als nach der Fütterung von Frauenmilch. Die gleiche Feststellung ließ sich für die Probanden der Gruppen IC_1 und IC_2 machen.

Für die Gruppen II_1 und II_2 (REIFGEBORENE) gelten die gleichen Aussagen wie für die Frühgeborenen.

Die Früh- und Reifgeborenen, die sofort mit Pomila gefüttert wurden, zeigten in ihren Plasmaamino-säurekonzentrationen am 6.-9. Tag keine erheblichen Abweichungen; nur die Werte für Tyrosin und Phenylalanin lagen bei Frühgeborenen über denen der Reifgeborenen.

Beim Vergleich der Gewichtszunahmen beider Gruppen waren zwischen Früh- und Reifgeborenen keine Unterschiede festzustellen.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei 48 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht zwischen 1001 g und 2500 g und 19 Reifgeborenen mit einem Geburtsgewicht zwischen 2501 g und 4000 g wurden die prae- und postprandialen Plasmaamino-säurenkonzentrationen von sieben Aminosäuren in Abhängigkeit von unterschiedlicher Nahrung untersucht.

Die Blutentnahmen erfolgten zwischen dem 1. und 11. Lebenstag jeweils unmittelbar vor dem ersten Füttern und drei Stunden danach, bei Kindern mit Infusion vor Anlage der Infusion und drei Stunden danach.

Gegenübergestellt wurden die Nahrungen Frauenmilch, Multival ff 16 und Aminosteril KE päd.

Bei einem Teil der Kinder wurde in den ersten zwei bzw. drei Lebenstagen Glucose vorgefüttert.

Orientierende Untersuchungen bei 11 Reifgeborenen mit einem Geburtsgewicht zwischen 2501g und 4000 g und 9 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht zwischen 1001 g und 2500 g mit Pomila schlossen die Arbeit ab.

Zur quantitativen Bestimmung der freien Aminosäuren im Plasma verwendeten wir den Unichrom Aminosäureanaly-sator der Firma Beckman.

Jede Nahrung bewirkte ein Ansteigen des Plasmaamino-säurenspiegels bis zum Ende der Untersuchungszeit.

Je höher der Aminosäuregehalt einer Nahrung, desto höher war auch der am Ende der Untersuchungszeit erreichte Plasmaamino-säurenspiegel.

Die Reihenfolge der mit der Nahrung verabreichten Aminosäuren vom höchsten bis zum niedrigsten mg%-Wert entsprach nicht der Reihenfolge im Plasmaamino-säurenspiegel.

Bei Frühgeborenen bewirkte Frauenmilch einen höheren Plasma-leucin- und Plasmaisoleucinspiegel als Nahrungen, deren Leucingaben die der Frauenmilch überstiegen.

Pomila bewirkte bei Frühgeborenen einen höheren Plasmaphenylalaninspiegel als Nahrungen, deren Phenylalaningaben die von Pomila überstiegen.

Bei allen Neugeborenen, die zunächst nur mit Glucose gefüttert wurden, lagen nach den ersten 10 Lebenstagen die Plasmaaminosäurenkonzentrationen niedriger als nach sofortiger Fütterung mit proteinhaltiger Nahrung.

Nach Infusion von Aminosteril KE päd zeigte sich ein besonders schneller Anstieg der Plasmaaminosäurenkonzentration.

Nach Fütterung mit Multival ff 16 war am Ende der Untersuchungszeit sowohl ein höherer Plasmaaminosäurenspegel als auch eine Gewichtszunahme bei einer größeren Anzahl von Kindern festzustellen als nach der Fütterung von Frauenmilch.

ANHANG

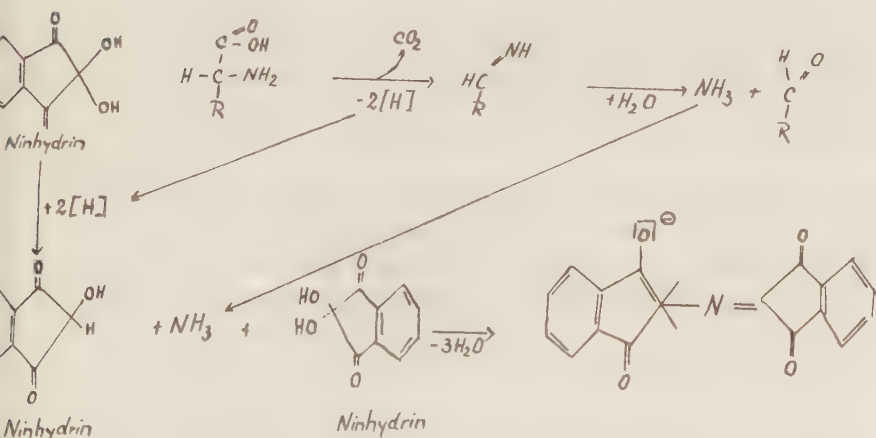
ERLÄUTERUNGEN ZUR DURCHFÜHRUNG DER ANALYSEN

Die Ninydrin-Reaktion

Aminosäuren sowie andere ninydrin-positive Substanzen reagieren bei ca. 100 C mit Ninydrin unter Bildung einer blau-violett-gefärbten Verbindung, die bei 570 nm ein Absorptionsmaximum besitzt. Aminosäuren ohne freie Aminogruppe wie Prolin und Hydroxyprolin reagieren zu einer gelb gefärbten Verbindung, die bei 440nm vermessen wird.

Bei der Reaktion mit Ninydrin werden die Aminosäuren oxidativ desaminiert und decarboxyliert. Dabei entstehen die um ein Kohlenstoffatom ärmeren Aldehyde. Reduziertes Ninydrin kondensiert mit dem abgespaltenen Ammoniak und unveränderten Ninydrin zu einem blauen Farbstoff.

Die Reaktion verläuft nach folgendem Schema:



Allgemeine Beschreibung des Analysators

Der Unichrom- Aminosäureanalysator besteht aus vier gleich- großen Bauelementen, die auf ausfahrbare Einschübe montiert sind, sowie aus einem verbindenden Mittelteil, der die Aus- tauschersäulen trägt.

Abb. 2 zeigt die Anordnung der fünf Einheiten

Reagenzieneinheit Fließmeter Reagenzien	Säuleneinheit	Schreibereinheit
Thermostateinheit Reaktionsbad Zirkulationsbad		Pumpen u. Steuereinheit Pufferpumpe Ninhydrinpumpe Zeitrelais Pufferwechselventile

Reagenzieneinheit

Die Reagenzieneinheit enthält die 21 Pufferflaschen, das wassergekühlte Ninhydringefäß sowie ein von Hand aus zu bedienendes Regenerier- und Äquilibriersystem. An der Frontseite der Reagenzieneinheit befindet sich der Durch- flußmesser (flowmeter), ein Glasröhrchen mit zwei Marken.

Durch Druck auf einen links angebrachten Knopf (bubble) läßt sich eine kleine Luftblase im Glasrohr injizieren. Die Zeit, welche die Luftblase benötigt, um den Weg zwi- schen den beiden Markierungen zurückzulegen, kann mit Hilfe einer Stoppuhr bestimmt werden. Daraus läßt sich auf Grund der Beziehung:

$$\frac{K}{\text{Durchflußmesser-Ablesung (sec)}} = \text{Durchfluß (ml/h)}$$

die Durchflußgeschwindigkeit des Puffers allein bzw. des Puffers mit Ninhydrinreagenz bestimmen.

Thermostateneinheit

Die Thermostateneinheit enthält das Zirkulations- und das Reaktionsbad.

Zirkulationsbad:

Als Zirkulationsbad zur Thermostatisierung der Ionenaustauschersäulen dient ein mit destilliertem Wasser gefüllter, modifizierter Heto-Thermostat der Type 623 K. Dieser besteht aus einem Gehäuse aus rostfreiem Stahl (Fassungsvermögen ca. 51), einer Umlaufpumpe, einer Kühlschlange und zwei Kontaktthermometern. Das rechte Thermometer wird auf 55°C eingestellt. Die Analysen der sauren und neutralen sowie der basischen Aminosäuren des Plasmas werden bei einer konstanten Temperatur von 55°C durchgeführt. Zum Schutz gegen Algen und Rostbildung wurden 1ml Zephirol bzw. 1/2 Tablette (1 Tbl. zu 2,5g) Natriumnitrit zugesetzt.

Reaktionsbad:

Das Reaktionsbad besteht aus einer Pilzheizhaube und einem Kolben aus Jenaer Glas mit Schliffdeckel. In dem Glaskolben befindet sich das coil, ein 33 m langer Teflon-Kapillarschlauch, in welchem bei 100 C die Reaktion zwischen Aminosäuren und Ninhydrin erfolgt.

Säuleneinheit

Die Säuleneinheit besteht aus der ausschwenkbaren Säulenwand, an welcher die Ionenaustauschersäulen angebracht sind und dem dahinter befindlichen Kolorimeterabteil mit Kolorimeter, Spannungskonstanthalter, zentraler Stromversorgung für alle Baueinheiten sowie dem Ablaufkanister.

An der Vorderfront der Säulenwand können insgesamt drei Säulen angebracht werden, und zwar zwei lange (69 x 0,9 cm) sowie eine kurze Säule (entweder 23 x 0,9 oder 29 x 0,9 cm). Bei dieser Versuchsreihe wurde nur die 29 x 0,9 cm Säule benutzt.

Schreibereinheit

Als Schreiber dient ein Philips-Mehrkanalschreiber.

Der Schreiber hat folgende Daten:

Registrierbreite	=	250 mm
Meßbereich	=	0 - 5 mV
Papiervorschub	=	150 mm/h
Punktfolge	=	1,5 sec

Pumpen und Steuereinheit

Diese Einheit enthält eine Puffer- und eine Ninhydrinpumpe, das Pufferventilsystem, die Zeitrelaissteuerung, die Laufzeituhr, zwei Manometer, die die Rückdrücke der beiden Pumpen anzeigen, sowie zwei Helipots zum Nullabgleich des Schreibers.

Bei den Pumpen handelt es sich um zwei Beckman Accu-Flo-Pumpen, die jeweils von einem 1/15 PS starken Motor angetrieben werden (Kolbenverdrängungspumpen).

Der Analysator enthielt ein manuelles Probenaufgabeventil, mit dem die Proben in der Pufferkreislauf geschaltet werden und somit auf die Trennsäule gelangen. Die feststehende Grundplatte des Ventils hat zwei Probenschleifen und drei Anschlüsse. Das bewegliche Oberteil hat drei Anschlüsse, wovon einer zur Pufferpumpe geht und die beiden anderen mit dem verstellbaren Säulenanschluß 1 bzw. Säulenanschluß 2 verbunden sind. In der Mittelstellung des Oberteils können nun in die mit Puffer gefüllten Probeschleifen mit Hilfe einer Injektionsspritze jeweils eine Probe eingegeben werden. Am besten spritzt man in die Öffnung ein, die beim Umschalten mit dem Säulenanschlußstück verbunden ist. Der an der gegenüberliegenden Öffnung austretende Puffer wird mit Zellstoff abgesaugt. Die Dichtfläche des Ventils sollte stets sorgfältig von austretendem, später auskristallisierendem Puffer gereinigt werden, damit die Grundfläche und die im Oberteil

befindlichen O-Ringe (Dichtringe) nicht beschädigt werden. Die Probenschleifen haben ein maximales Fassungsvermögen von 1,2 ml. Zur Durchführung der Analysen wurde jeweils das Oberteil in Stellung 2 gebracht, da diese Probenschleife mit der physiologischen Basensäule verbunden war.

Für die Schreibereinheit wurde das Kolorimeter B benutzt. Es besteht aus einer Lichtquelle (Wolframdrahtlampe), einer Kollektivlinse, einer Mikroküvette mit einer Schichttiefe von 10 mm, einer Kollimatorlinse, einem halbdurchlässigen Spiegel, zwei Schmalband-Interferenzfiltern (570 nm und 440 nm) sowie zwei hinter den Filtern angeordneten Vakuum-photozellen als Empfänger.

Für beide Analysenarten wurde die physiologische Basensäule (29 x 0,9 cm) verwendet. Diese war bis zu einer Höhe von 23 cm mit Harz des Typs M 71 der Firma Beckman gefüllt. Die Harze der M-Serie sind stark saure sulfonierte Kationenaustauscher. Die Matrix ist ein Styrol - Divinylbenzol Copolymer. Die Quervernetzung beträgt 7%.

Packen der Säule

1. Man wäscht die Säulen vor dem Einfüllen der Harze gründlich mit einem nicht-ionischen Detergenz z.B. Pril. Anschließend wird mit viel dest. Wasser nachgespült.
2. Man nimmt das untere Säulenfitting und befeuchtet den schwarzen Dichtungs-O-Ring mit Puffer. Dann legt man zwei Metallfritten (Rand in Richtung aus der Säule) genau über die Durchflußöffnung des Fittings. Nun wird das Fitting mit den beiden Metallfiltern vorsichtig von unten her in die Säule eingeschoben. Gleichzeitig drückt man die Steckklammer gegen den Säulenmantel und schiebt das Fitting nur so weit hoch, bis die Klammer einrastet. Da das Fitting durch die Klammer nur gegen ein Herausrutschen gesichert ist, wird es mit einem Gummi an der Klammer fixiert, so daß ein unvorsichtiges Hochschieben nicht möglich ist.

3. Man schaltet das Ventil der zur Füllung bestimmten Säule auf "drain" (Auslauf). Die Säule wird mit dem zur Analyse bestimmten Puffer gefüllt. Nach Aufsetzen des Stickstoffanschlusses auf die Säule drückt man den Puffer unter kurzem Einschalten des Stickstoffventils bis auf eine Höhe von 2 cm oberhalb des Metallfilters aus der Säule heraus. Dadurch wird die Luft, die sich im Filter befindet, verdrängt. Anschließend entfernt man den Stickstoffanschluß und verschließt das untere Ende der Säule mit Blindstopfen und Klammer.
4. Bevor man das Harz in die Säule füllt, schlemmt man dreimal mit 0,2 n NaOH auf, läßt das Harz absetzen und gießt den Überstand ab. Man gibt Harz und NaOH im Verhältnis 1 : 1 auf die Säule. Man rührt die Aufschlemmung im Becherglas kurz vor dem Einfüllen in die Säule mit einem Glasstab gründlich durch und füllt die Säule bis zum oberen Rand. Nachdem sich 2 cm Harz am Boden der Säule abgesetzt hat, kenntlich an einem dunklen braunen Ring zwischen abgesetztem und losem Harz, entfernt man den Blindstopfen, schaltet das zur Säule gehörende Ventil auf "coil", startet die Pufferpumpe und füllt die Säule ganz mit Puffer auf. Dabei führt man den Headspacer am oberen Rand der Säule entlang, um so das dort festgesetzte Harz abzuspülen. Danach wird das Überlaufventil (buffer bleeder) geöffnet und der Headspacer in die Säule mit geringster Tiefe eingeführt. Man befestigt den Headspacer mit zwei Klammern an der Säule und schließt das Überlaufventil.
5. Durch den Start der Pufferpumpe wird das Harz komprimiert. Das Harz verdichtet sich kontinuierlich, was am langsamen Aufsteigen des braunen Ringes zu erkennen ist. Wenn über dem Ring eine lose Harzsäule von 4 cm steht, schaltet man die Pumpe ab, wartet unter Manometerkontrolle, bis der Rückdruck auf Null zurückgegangen ist, löst die Klammern

am Headspacer, und schaltet die Pufferpumpe wieder ein. Man wartet, bis sich der Headspacer durch den hydraulischen Druck langsam aus der Säule herausgeschoben hat und saugt den überstehenden Puffer bis auf 1 cm, ohne die Oberfläche der abgesetzten Harzschicht aufzuwirbeln, ab.

6. Vor Eingießen der zweiten Sektion füllt man eine Pipette mit gebogener Spitze mit der zuvor gründlich durchgerührten Harzaufschlammung. Man entleert den Inhalt der Pipette langsam, indem man diese im Inneren der Säule kreisförmig an der Glaswand entgegenführt. Auf diese Weise wird ein Aufwirbeln der Oberfläche der gepackten Harzschicht vermieden. Nachdem man auf diese Weise etwa 5 ml zugegeben hat, gießt man Harzaufschlammung aus dem Becherglas zu, bis die Säule gefüllt ist. Auf diese Art packt man die Säule fest bis 2 cm über der gewünschten Höhe.

7. Man bedeckt die Harzschicht mit einem Teflonfilter und dieses mit zwei Papierfiltern. Die Papierfilter sollten nach 20 Analysen gewechselt werden. Der Headspacer wird unmittelbar auf das Filterpapier aufgesetzt. Die Ventile der nicht benutzten Säulen müssen auf "drain" geschaltet werden.

Der Pufferdurchfluß betrug 110 ml/h, die Ninhydrinmenge 55 ml/h. Es ist darauf zu achten, daß das Verhältnis Puffer zu Ninhydrin wie 2:1 ist. Die Berechnung der Durchflußmenge erfolgte nach folgender Formel:

$$\frac{K}{\text{Durchfluß (ml/h)}} = \text{Durchflußmesser-Ablesung (sec)}$$

Man dividiert die Konstante $K = 1390$ (für dieses Gerät) durch die erwünschte Durchflußmenge in ml/h und vergleicht das Resultat mit der gemessenen Zeit (sec). Die benutzte Stoppuhr hatte eine Ablesegenauigkeit von 0,1 sec. Ist der gestoppte Zeitwert kleiner als der errechnete Wert, so muß

der Pumpenhub verringert werden (durch Drehen des Drehknopfzählers in Uhrzeigersinn); ist der Zeitwert größer, muß der Pumpenhub erhöht werden (durch Drehen des Drehknopfzählers gegen den Uhrzeigersinn). Nach jeder Veränderung des Pumpenhubes muß vor einer erneuten Messung der Strömungsgeschwindigkeit ca. drei Minuten gewartet werden.

Der Rückdruck lag beim pH von 6.37

für Puffer = 32 - 36 atü

für Ninhydrin = 3.1 - 3.3 atü

beim pH von 3.30

für Puffer = 28 - 32 atü

für Ninhydrin = 2.9 - 3.1 atü

Alle Analysen wurden bei einer Säulentemperatur von 55°C durchgeführt.

Enteivung

Da die Serumproteine bei der Aminosäurenanalyse an den hochvernetzten Kationenaustauschern dadurch stören, daß sie irreversibel vom Harz adsorbiert werden und auf die Dauer zu einer Verbreiterung der peaks, einer Verschlechterung der Auflösung und schließlich zu Druckanstieg und völliger Verstopfung der Säulen führen, müssen sie vor der Analyse entfernt werden.

Hierzu können sowohl chemische als auch physikalische Methoden dienen. Chemische Methoden wurden von Hamilton al (21)

und Stein und Moore (22) beschrieben. An physikalischen Methoden bieten sich wegen der großen Ausbeute die Ultrazentrifugation an, zumal bei den hier vorgegebenen Probanden die Blutentnahme so gering wie möglich gehalten werden mußten.

Die Aufbereitung des Blutes zur Ultrazentrifugation wurde folgendermaßen vorgenommen: Den Probanden wurde entweder aus den Kopf- oder Armvenen 2 - 3 ml Blut abgenommen. Das Blut wurde in Zentrifugenröhrchen, die vorher mit Heparin präpariert worden waren, aufgefangen. Nach vorsichtigem Umschütteln wurden die Röhrchen in einer ECCO - Superior - Zentrifuge bei 7000 U/min, 15 Minuten lang zentrifugiert. Das so erhaltene Plasma wurde mit Micro-Pipetten abpipettiert und auf diese

Weise genau in ml angegeben. Die jeweilige Menge wurde in Ultrazentrifugenröhrchen umpipettiert und anschließend gefriergetrocknet. Die im Gefrierschrank aufbewahrte Substanz konnte bei Bedarf zur Ultrazentrifugation weiter verwandt werden. Es wurden jeweils 2 ml Puffer vom pH 1.5 zugegeben und bei 30 000 U/min und 4 C sechs Stunden lang in einer "Omikron" (Firma Christ) Ultrazentrifuge zentrifugiert.

Das so gewonnene fast eiweißfreie Plasma wurde in kleine Plastikröhrchen umpipettiert, wobei die durchschnittliche Ausbeute um 0.8 ml lag, und dann im Tiefkühlfach bis zur Eingabe in den Analysator eingefroren. Das so eingefrorene Plasma konnte noch nach einem Jahr zur Analyse verwendet werden; dies ging aus eigenen Kontrollen hervor, bei denen reproduzierbare Werte erzielt wurden.

Zur Durchführung beider Analysenprogramme wurden folgende Puffer benutzt:

Für die Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Histidin wurde ein Natrium-Citrat-Puffer von pH 6.37 (0.35 n), für die Aminosäuren Valin, Methionin, Isoleucin und Leucin wurde ein Natrium-Citrat-Puffer vom pH 3.30 (0.35 n) hergestellt. (24)

Abb. 3 benötigte Reagenzien

Zusammensetzung	ph 6.37	ph 3.30
Normalität	0.35	0.35
Natrium-Citrat x 2H ₂ O (g)	343.25	343.25
Konzentrierte HCL (ml)	9.0	218.75
Thiodiglycol (ml)	---	50.0
Caprilsäure (ml)	1.0	1.0
Brij (ml)	20.0	20.0
Endvolumen (l)	10.0	10.0

Um das Endvolumen zu erreichen, wurde mit Aqua bidestillata aufgefüllt. Der pH-Wert wurde mit dem Metrohm-Präzisions pH-Meter E 510 auf 0.01 pH-Einheiten eingestellt. Der pH-Wert wurde vor jeder Neufüllung der Reagenzflaschen im Analysator überprüft, unterlag aber bis zum Verbrauch einer 10 l Vorratsflasche innerhalb von vier Wochen einer Abweichung von maximal 0.01 pH-Einheiten. Die Abweichung wurde jeweils mit konzentrierter HCL oder 50% NaOH eingestellt. Vor jeder Messung wurde das pH-Meter mit einer Eichlösung von pH 4.0 und pH 7.0 neu geeicht.

Ninhydrinreagenz

Bei der Herstellung des Ninhydrinreagenz wurde wie folgt verfahren:

1. In zwei Glasgefäßen wurde jeweils
40.0 g Ninhydrin und
0.8 g Zinn II-Chlorid
eingewogen.
2. In die Ninhydrinflasche wurden 1500 ml peroxydfreie Methylcellosolve (Merck) und 500 ml 4n - Natriumacetat. Puffer eingefüllt.
3. Der 4n Natriumacetat-Puffer wurde auf folgende Weise hergestellt: zu 2 l Aqua bidestillata wurden unter Erhitzen und ständigem Umrühren portionsweise 2720 g Natriumacetat $\times 3 \text{ H}_2\text{O p.a.}$ zugegeben. Ein Sieden der Lösung war zu vermeiden. Nach vollständiger Lösung des Natriumacetats läßt man die Lösung auf Raumtemperatur abkühlen; dann gibt man 500 ml Eisessig zu und füllte auf 5 l mit Aqua bidest. auf. Die Lösung mußte auf einen pH von 5.51 ± 0.03 eingestellt werden. Nach genauer Einstellung des pH-Wertes war bei diesem Puffer keine pH-Schwankung innerhalb des Verbrauchszeitraums festzustellen.

Alle Puffer wurden jeweils vor dem Gebrauch durch eine Glasfritte gefiltert und beim Einfüllen in die Analysatorreagenzflaschen nochmals durch einen Papierfilter gefiltert.

4. Die in der Ninhydrinflasche befindliche Lösung wurde 30 Minuten lang mit reinem Stickstoff bei einem Druck von 0.4 atü durchströmt, um den Luftsauerstoff zu verdrängen; dabei stand die Flasche auf einem Magnetrührer, der während der gesamten Ninhydrinreagenzzubereitung lief.
5. Bei durchperlendem Stickstoff wurde portionsweise Ninhydrin, und nachdem dieses vollständig gelöst war, Zinn II-Chlorid zugegeben.
6. Der leicht eingefettete PVC-Verschluß der Ninhydrinflasche wurde jetzt mit einer Klammer fixiert. Der Übergang PVC-Verschluß und Flaschenhals wurde zusätzlich mit drei Lagen Parafilm abgedichtet.
7. Anschließend wurde noch eine Stunde Stickstoff durch das Reagenz geleitet und vor Beginn der ersten Analyse eine weitere Stunde stehengelassen.

Um das Ninhydrinreagenz möglichst lange voll analysenfähig zu halten, sollte es bei 4°C aufbewahrt werden. Das war bei dieser Analysenreihe nicht möglich, sodaß nur eine Kühlung durch das vorhandene Kühlgefäß mittels einer Kupferrohrspirale, die von kaltem Leitungswasser ununterbrochen durchströmt wurde, zu erlangen war. Um eine bessere Wärmeleitung zwischen Flasche und Spirale herzustellen, wurde das Kühlgefäß mit Wasser gefüllt. Die Temperatur in diesem Wasser betrug 15.6°C, damit war das Ninhydrinreagenz max. 14 Tage stabil zu halten.

Eichung des Analysators

Die allgemeine Reproduzierbarkeit des Gerätes wurde zum Beginn der Untersuchungen mit Beckmann-Standard-Testgemisch geprüft. Hierbei wurden pro Analyse 1 ml Standard in einer Konzentration von 0.1 µM/AS benutzt; d.h. im Standard-Testgemisch lagen die Aminosäuren in einer Konzentration von 2.500 ± 0.004 µM/ml vor. Zur Durchführung der Analysen (Testgemischläufe) wurden 1 ml Testgemisch und 24 ml Puffer vom pH 2.2 in ein Gefäß pipettiert. Das mit einem Glasstopfen verschlossene Gefäß wurde im Kühlschrank aufbewahrt.

Diese Testläufe wurden unter folgenden Bedingungen gefahren:
 A. Für saure und neutrale Aminosäuren an der langen (69x0.9cm) Säule.
 B. Für basische Aminosäuren an der kurzen (23x0.9cm) Säule.
 Die Testläufe wurden nach angegebener Einstellung der Zeituhren automatisch gefahren.

Abb. 4 zeigt die vorgegebenen Einstellungen

	saure und neutrale AS	basische AS
Pufferwechsel	85'	----
Temp. Wechsel	----	----
run control	210'	70'
(Lauf-Zeitrelais)		
shut down	90'	90'
(Spül-Zeitrelais)		
wash timer (NaOH)	6'	6'
Erster peak	40'	20'
Ende der Analyse	210'	60'
	Phenylalanin	Arginin
Puffer (0.2 n)	pH 3.28	pH 5.28
	pH 4.25	(0.35n)

Zur genauen Festlegung der Aminosäurenpeaks

a) Valin, Methionin, Isoleucin, Leucin

b) Tyrosin, Phenylalanin, Histidin

wurden zum Standard-Testgemisch zusätzlich 0.05 ml der betreffenden Aminosäuren zugegeben, wobei ein deutlicher Anstieg des jeweiligen peaks zu beobachten war. Es gelang leider nicht, die zu bestimmenden sieben Aminosäuren mit einem Lauf zu ermitteln, da Phenylalanin und Tyrosin sehr schlecht aufgetrennt wurden. Diese Läufe wurden mit der kurzen (29x0.9cm) Säule durchgeführt. Zur besseren Auftrennung wurden zwei Programme festgelegt. (23)

1. Bestimmung von Tyrosin, Phenylalanin und Histidin:

Bei Verwendung des oben genannten Na-Citratpuffers vom pH 3.30 (0.35n) ließen sich die Aminosäuren in 24,34, 39 bzw. 46 Minuten bestimmen. Um die Reproduzierbarkeit der Apparatur während der gesamten Analysendauer genau überprüfen zu können und für die Berechnung der peakflächen die $H \times W$ - Konstante ermitteln zu können, wurden mit Aminosäure-Testgemisch für die Aminosäuren Tyr, Phe, His fünf Standardläufe und für die Aminosäuren Val, Meth, Ile, Leu sechs Standardläufe durchgeführt. Hierbei wurde pro Analyse 1 ml Standard in einer Konzentration von 0.1 $\mu\text{M}/\text{AS}$ benutzt. Während der gesamten Untersuchungszeit wurden für Aminosäuren Val, Meth, Ile, Leu fünfzehn und für die Aminosäuren Tyr, Phe, His sechzehn Standarddurchläufe durchgeführt. Dabei lagen alle Werte innerhalb der statistischen 2 s Grenze.

Die $H \times W$ - Konstante wurde folgendermaßen ermittelt:

Die Gleichung, welche die peakfläche ($H \times W$) mit der Konzentration (in Mikromol) sowie der $H \times W$ -Konstanten (C_{HW}) in Beziehung setzt, lautet:

$$\text{Mikromol}_{\text{AS}} = \frac{H \times W}{C_{\text{HW}}}$$

daraus folgt

$$C_{\text{HW}} = \frac{H \times W}{\text{Mikromol}_{\text{AS}}}$$

Durch Einsetzen in die Formel berechnet man die jeweils für die einzelne zu bestimmende Aminosäure charakteristische Konstante.

Um den Wert ein Mikromol pro Aminosäure zu erhalten, mußten wir entsprechend dem Standardwert der sich auf 0.1 $\mu\text{M}/\text{AS}$ bezieht mit zehn multiplizieren. Nach Durchführung der oben angegebenen Testläufe wurde für jede Aminosäure der Mittelwert der $H \times W$ -Konstanten bzw. die sog. "Standard- $H \times W$ -Konstante" berechnet.

Durchführung der Analysen

Die an einem Arbeitstag zu bestimmenden Proben wurden ca. eine halbe Stunde vor Analysenbeginn aus dem Tiefkühlfach genommen und bei Raumtemperatur aufgetaut. Nach Berechnung der aufzugebenden Plasmamenge erfolgte die Plasmaentnahme aus dem Plastikröhrchen mit Hilfe einer 1 ml Einmalplastikspritze mit aufgesetzter Einmalkanüle Nr. 2. Das Einspritzen des Probenvolumens in das Probenaufgabeventil erfolgte mit einer 5 mm langen stumpfen Kanüle, die beim Einspritzen gegen den Ventilkörper außen mit einer Gummischeibe abgedichtet wurde. Die Analyse wurde durch gleichzeitiges Einschalten der Pufferpumpe, Ninhydrinpumpe, des Schreibers und der Kontrolluhr gestartet. Nach vier bzw. fünf Minuten begann der Vorlauf, d.h. es wurden alle Aminosäuren, die entweder mit dem jeweiligen Puffer nicht eluiert werden können, oder die zeitlich vor den zu bestimmenden Aminosäuren liegen, eluiert. Um die Laufzeit der Analysen so kurz wie möglich zu halten, wurde der Ablauf der Analysen manuell gesteuert; so konnte man, sobald die Halbwertshöhe des letzten peaks ausgedruckt war, die Pufferpumpe ausschalten und sofort mit der Regenerierung der Säule mit 0.2 n NaOH beginnen. Dies wurde zweckmäßig eine Minute durchgeführt; gleichzeitig wurde die Ninhydrinpumpe ausgeschaltet, um eine Vermischung von NaOH mit Ninhydrin im Mischblock in jedem Fall zu vermeiden. Vorausgesetzt, daß die zuvor aufgegebene Probemenge sehr klein war, würde hierbei kein Schaden entstehen; bei höheren Konzentrationen an basischen Aminosäuren kann es dann aber im Coil zu einem milchig trüben, braunen Niederschlag kommen. Diese Niederschläge haben öfter zu Verstopfungen am Coil-Küvetten-Ventil und in der Küvette selbst geführt. Um eine Trübung des Eluats sofort feststellen zu können, wurde der Schreiber mit Beginn der Analyse eingeschaltet. Bei Verlegung des Küvettenlumens kann keine Extinktion

gemessen werden, und der Schreiber druckt nur eine Nulllinie im dritten Kanalbereich aus. Wird eine Verstopfung im Bereich der Küvette innerhalb des ersten Drittels der Vorlaufzeit festgestellt, kann der Analysator ausgeschaltet werden, Küvette oder Coil-Küvetten-Ventil ausgebaut werden und gereinigt werden. Sollte sich an der Küvettenwand Niederschlag festgesetzt haben, kann man diesen unter starkem Druck mit Aqua bidest. aus einer 20 ml Plastikspritze wegspülen. Gelingt das nicht, oder ist das Ventil verstopft, muß mit einem Perlonfaden (Angelsehne) versucht werden, den Niederschlag abzustoßen. Um ein Auskristallisieren im Coil zu vermeiden, sollten diese Reparaturen nicht länger als zehn Minuten dauern.

Anschließend wird der Analysator erneut gestartet; einen Verlust der zu bestimmenden Aminosäuren braucht man nicht zu befürchten.

Nachdem fünf Minuten regeneriert worden ist, schaltet man Natronlauge ab und äquilibriert zehn Minuten mit dem im nachfolgenden Lauf geforderten Puffer.

Zur Herstellung der 0.2 n NaOH zur Regenierung wurde Titrisol (Merck) benutzt. Der Inhalt der Tube 40.00 g NaOH für 1 l = 1 m Lösung wurde bis zu 5 l mit Aqua bidest. aufgefüllt.

Bei jeder Analyse muß mit einer Stoppuhr die Durchflußgeschwindigkeit überprüft werden, da eine mögliche Erhöhung der flow rate entweder eine Verlagerung der ersten zu bestimmenden Aminosäure in den Vorlauf oder eine schlechtere Auftrennung einzelner peaks zur Folge haben kann.

Wir werteten entsprechend dem beigegebenen Handbuch zum Aminosäurenanalysator die Chromatogramme aus.

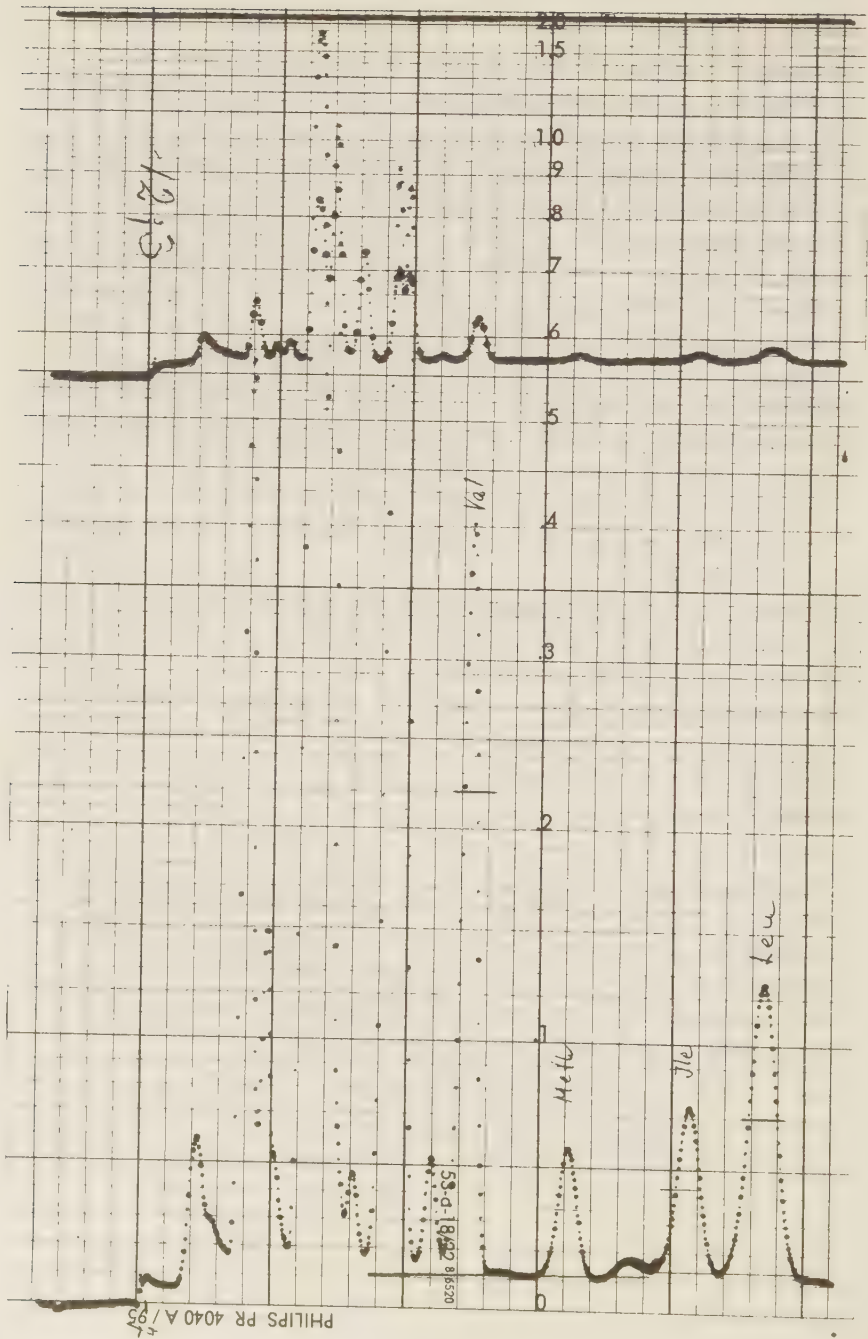


SCHAUBILD 1 : CHROMATOGRAMM



Probenaufgabe

Um die geringste Menge Plasma zu finden, die nötig ist, um für beide Analysen noch auszuwertende peaks zu erhalten, wurden mit 1.5 ml Erwachsenenplasma, das in 2 ml Puffer pH 2.2 aufgenommen wurde, Probelaufe gefahren; es wurden dadurch für die Aminosäuren Val, Meth, Ile und Leu die geringste aufzugebende Menge von 0.5 ml Plasma, für die Aminosäuren Tyr, Phe und His die Menge von 0.25 ml Plasma gefunden. Durch eine Dreisatzrechnung läßt sich die Menge an Plasma berechnen, die anteilmäßig gelöst ist.

$$1) \quad \frac{1,5}{2} = \frac{x}{0,25}$$

$$x = \frac{1,5 \times 0,25}{2}$$

$$x = 0,1875$$

$$2) \quad \frac{1,5}{2} = \frac{x}{0,5}$$

$$x = \frac{1,5 \times 0,5}{2}$$

$$x = 0,3750$$

Es ergab sich für Val, Meth, Ile und Leu ein Wert 0.1875 ml, für Tyr, Phe und His ein Wert von 0.3750 ml. Für Val, Meth, Ile und Leu wurde ein etwas niedrigerer Wert von 0.09 ml, für Tyr, Phe und His ein etwas höherer Wert von 0.4 ml für alle Probandenläufe festgesetzt.

Mit demselben Plasma wurde für Val, Meth, Ile und Leu die Reproduzierbarkeit an Hand von vier Läufen, für Tyr, Phe und His an Hand von fünf Läufen bestätigt.

Für alle Probandenanalysen wurde die Menge des aufzugebenden Plasmas nach:

$$\frac{\text{ml Plasma}}{2} = \frac{0,09}{x}$$

für Tyr, Phe und His

$$x = \frac{2 \times 0,09}{\text{ml Plasma}}$$

und:

$$\frac{\text{ml Plasma}}{2} = \frac{0,4}{x}$$

$$x = \frac{2 \times 0,4}{\text{ml Plasma}}$$

für Val, Meth, Ile und Leu bestimmt.

Die so erhaltenen Werte müssen alle auf 1 ml bezogen werden, d.h. es muß der jeweilige Quotient aus 1 und der aufgegebenen Menge gebildet werden, z.B. aufgegebene Menge 0.09 ml

$$\frac{1}{0.09} = 11.1111$$

Mit dem Wert des Dividenden muß der Wert des Produktes (aus H x W) multipliziert werden. Das so erhaltene Produkt hat die Einheit uM/ml Plasma.

Zur Umrechnung auf mg% ist es erforderlich, den erhaltenen Wert in uM/ml mit 1/10 des Molekulargewichts der entsprechenden Aminosäure zu multiplizieren.

$$\text{mg\%} = \text{uM/ml} \times (0.1 \times \text{MG})$$

Für die Aminosäuren wurden folgende Werte ermittelt:

	Val	Meth	Ile	Leu	Tyr	Phe	His
0.1xMG	11.715	14.92	13.118	13.118	18.119	16.519	15.516

Wartung und Reparaturen

Folgende Reparaturen und Wartungen mußten im Laufe der gesamten Analysendauer am Analysator vorgenommen werden:

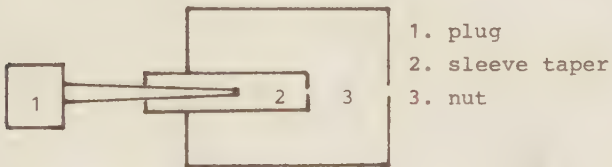
1. Die Kugelventile im Pumpenkopf der Pufferpumpe waren beschädigt und schlossen nicht mehr dicht ab, sodaß Puffer aus der Pumpe auslief und dadurch der Druck und die Durchflußgeschwindigkeit nicht mehr konstant waren.
Es erfolgte ein Austausch der beschädigten Kugeln.
2. Das Coil verstopfte nach ca. 1/4 Jahr Analysenzeit, es gelang nicht, die Auskristallisation durch mechanisches Biegen des coils oder durch Spülen mit mt Methylcellosolve zu lösen; es erfolgte ein Auswechseln des coils. Durch häufiges Spülen mit Meythylcellosolve werden die Gummi - O - Ringe angegriffen und langsam zersetzt. Es empfiehlt sich, so selten wie möglich Teile des Analysators zu spülen.

3. Das Platzen eines Kühlwasserschlauchs machte den Austausch der Heizhaube für das coil und einen Austausch der Relais im Verteilerkasten erforderlich.
4. Ebenfalls durch Methylocellosolve wurden die O-Ringe des Ventilblocks Ninhydrinpumpenkopfes zersetzt. Der Ventilblock wurde zerlegt, alle O-Ringe erneuert und gleichzeitig das Filter mit neuer Glaswolle gestopft.
5. Während der gesamten Laufzeit (ca. 15 Monate) mußte die Photometerbirne sechsmal erneuert werden.
6. Infolge der häufigen Auskristallisation setzte sich am inneren Küvettenrand ein dichter Belag ab, sodaß sie jeweils in Abständen von drei Wochen ausgebaut und gereinigt werden mußte. Die Reinigung erfolgte mit Hilfe eines Nylonfadens, der durch die Küvette geschoben wurde, wodurch der Belag abgekratzt wurde. Anschließend mußte man mit Aqua bidest. unter hohem Druck nachspülen. Hierzu eignet sich eine 20 ml Plastik-Einmalspritze. Die O-Ringe an der Küvette wurden einmal erneuert.
7. Die Ventile an Küvette und Mischblöcken müssen beim Einschrauben vorsichtig mit der Hand bis zum Anschlag gedreht werden, um eine Zerstörung des Kunststoffgewindes zu vermeiden; dann sollten die Ventile leicht mit dem Schraubenschlüssel nachgespannt werden.
Verstopfen der Ventile: Der plug wird aus dem Teflonschlauch herausgezogen und mit einem Nylonfaden durchstoßen, anschließend mit Aqua bidest. gespült. Sollte der Teflonschlauch am Ende aufgerissen sein, so wird der schadhafte Teil mit einem scharfen Messer herausgeschnitten, anschließend mit einem spitzen Gegenstand (z.B. alte Grammophonnadel) aufgeweitet und der sleeve taper eingeführt. Zur Unterstützung kann das Schlauchstück mit Sandpapier festgehalten werden. Zusammen mit

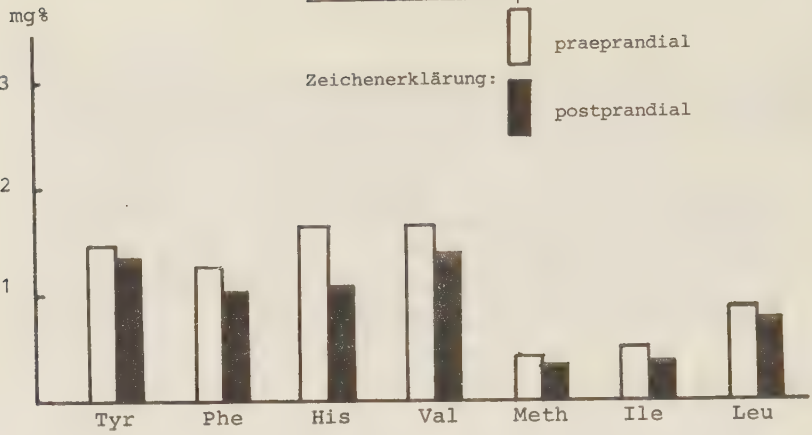
der nut wird der Schlauch mit dem sleeve taper bis zum plug vorgeschoben, dann erfolgt die Befestigung im Mischblock.

8. Bei starkem Rückdruck an den Säulen kann man durch den Austausch der beiden Papierfilter eine erhebliche Herabsetzung des Druckes erreichen.
9. Die Stempelkissen des Stempelrades im Schreiber müssen öfter mit Stempelfarbe eingefärbt werden.

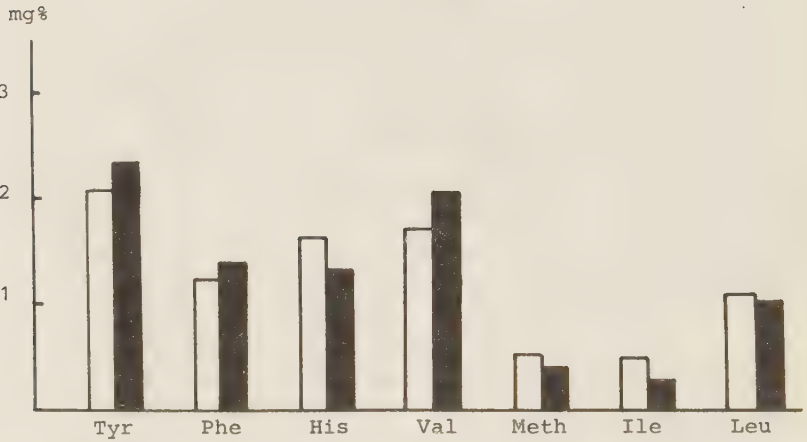
Abb. 5 zeigt den Aufbau eines Ventils



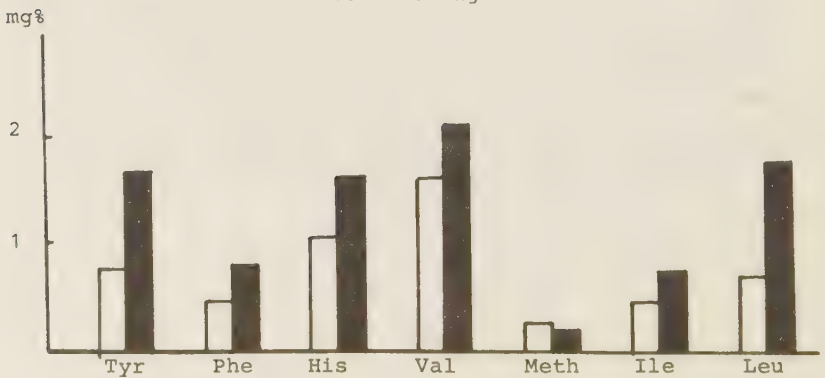
GRUPPE IA₁



1. - 3. Tag



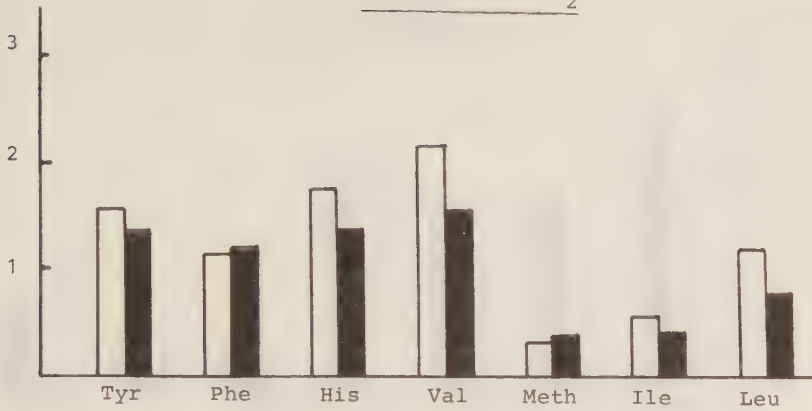
4. - 6. Tag



7. - 11. Tag

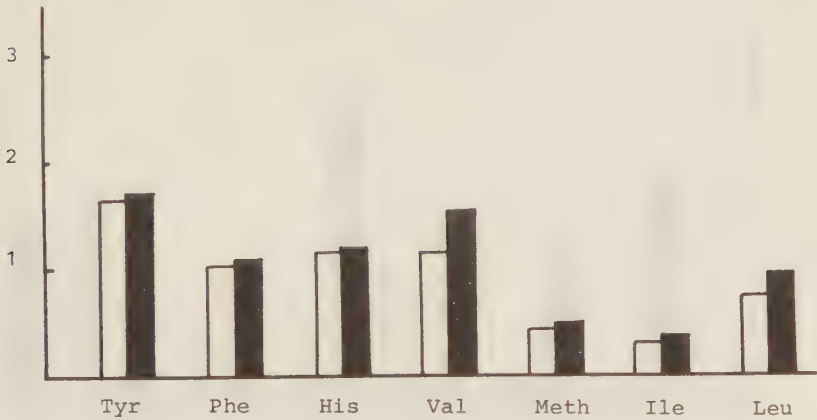
GRUPPE IA₂

mg%



1. - 3. Tag

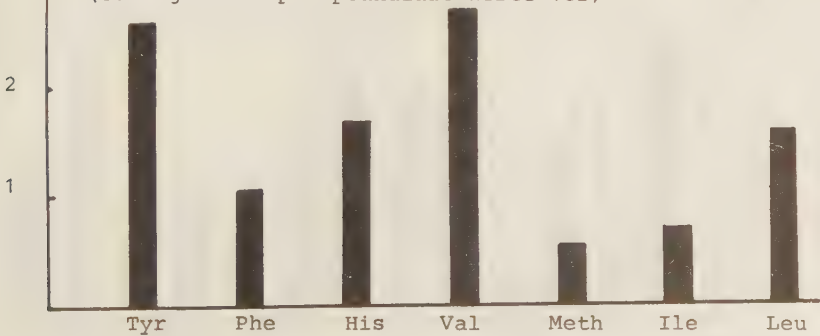
mg%



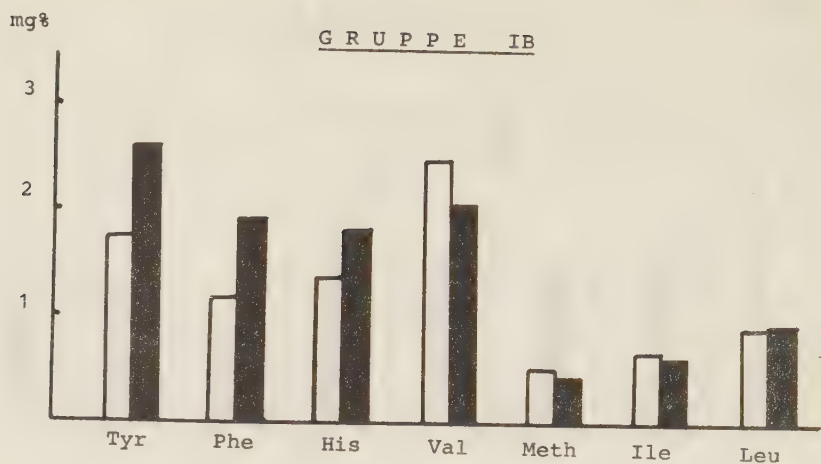
4. - 6. Tag

mg%

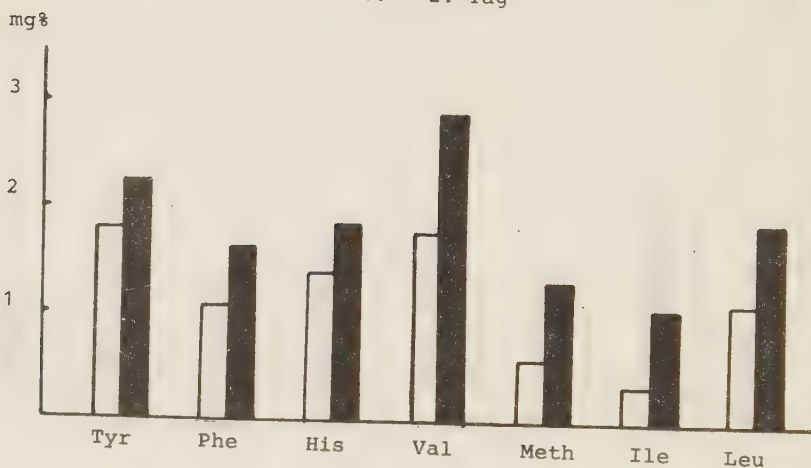
(es lagen nur postprandiale Werte vor)



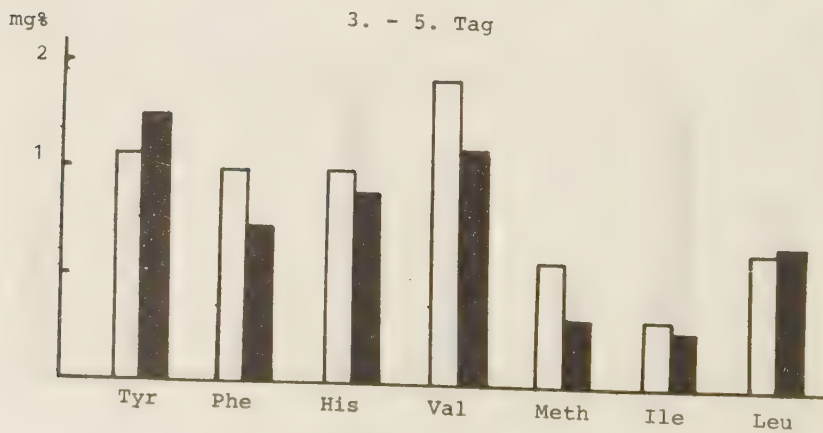
7. - 11. Tag



1. - 2. Tag

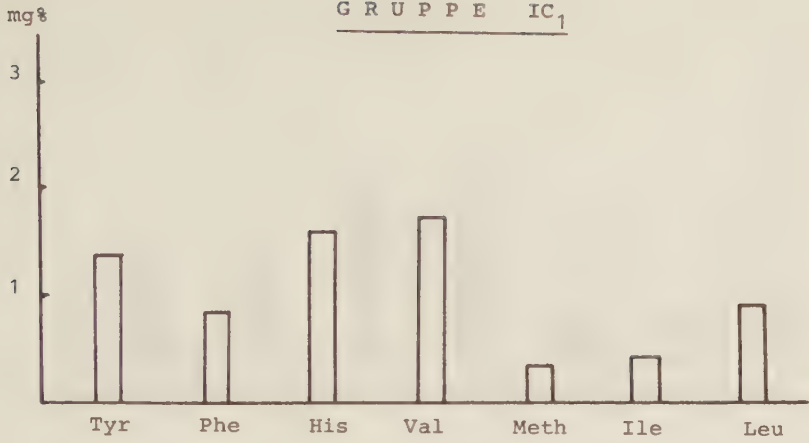


3. - 5. Tag

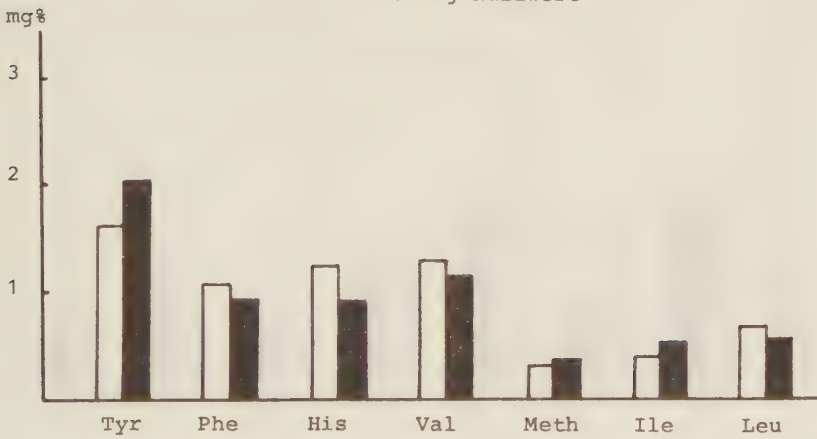


6. - 11. Tag

GRUPPE IC₁

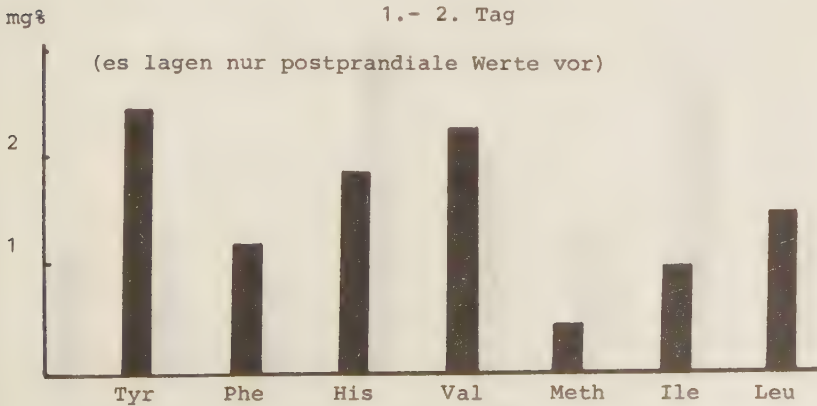


1. Tag Nullwert



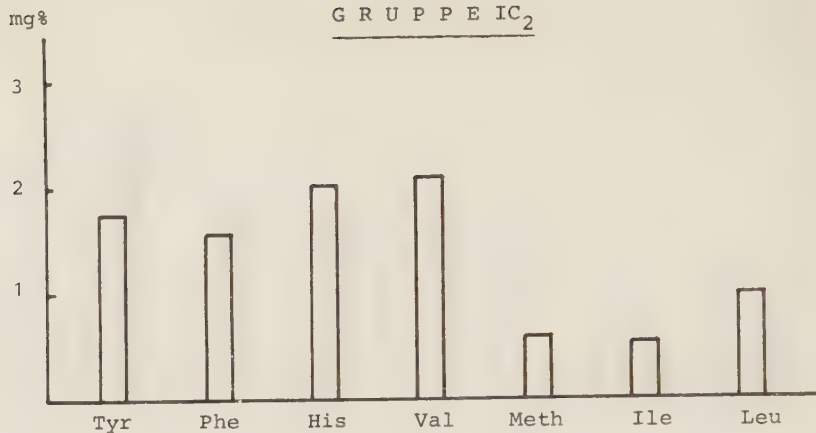
1.- 2. Tag

(es lagen nur postprandiale Werte vor)

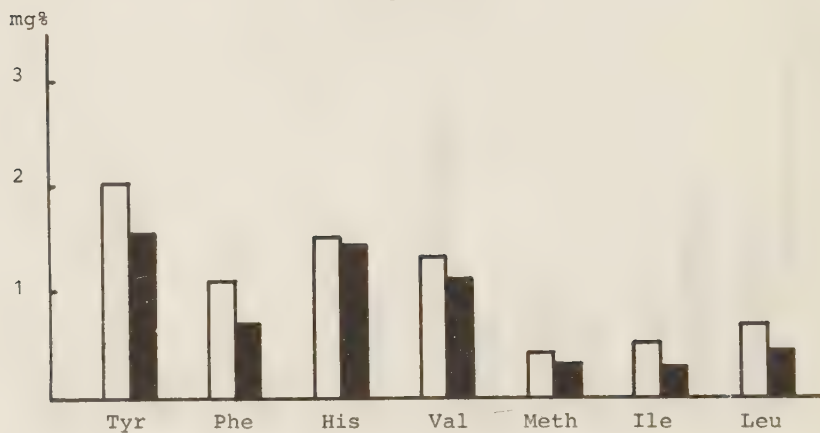


6. - 11. Tag

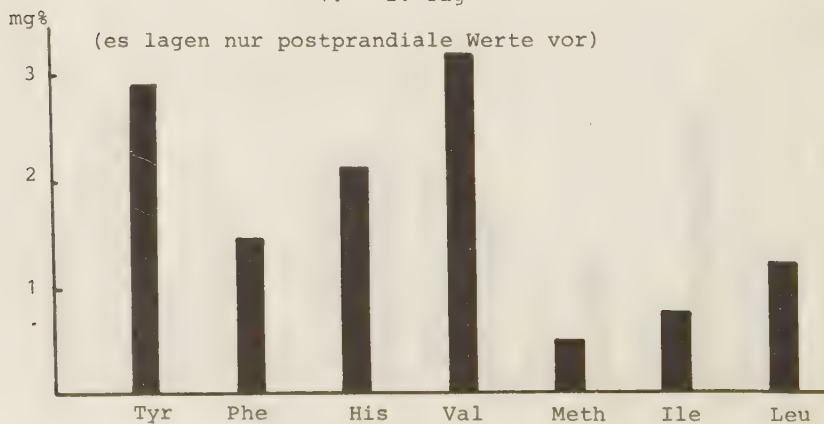
- 64 -
GRUPPE IC₂



1. Tag Nullwert

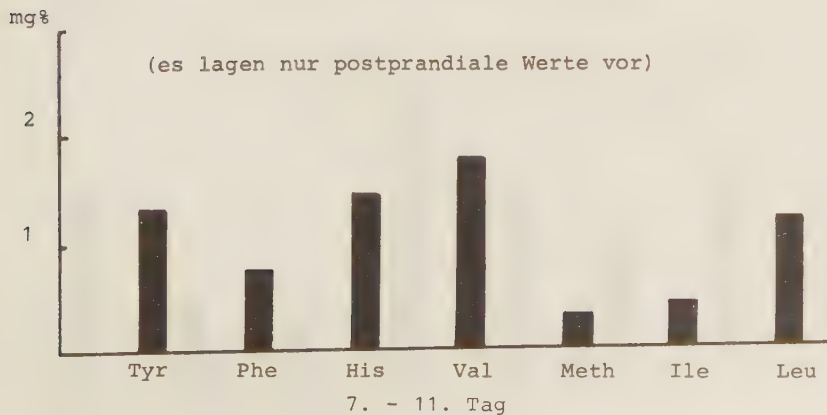
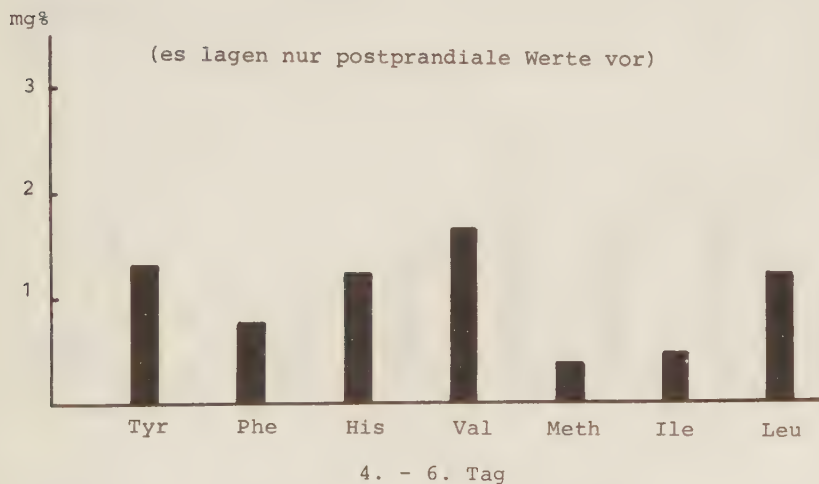
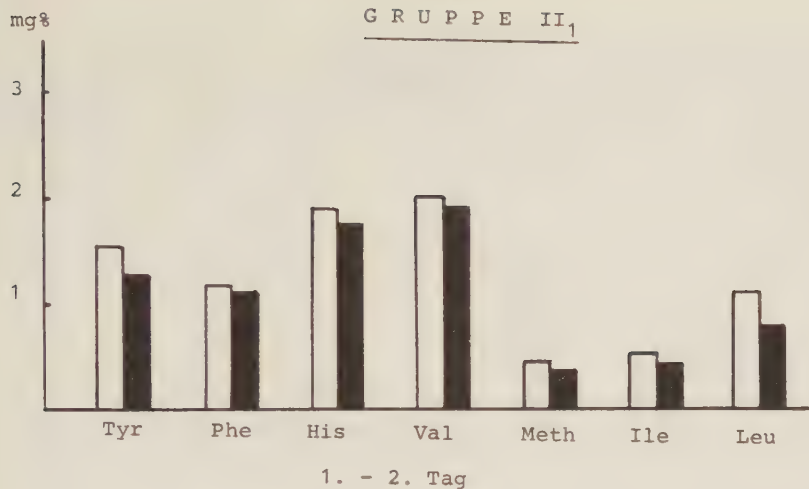


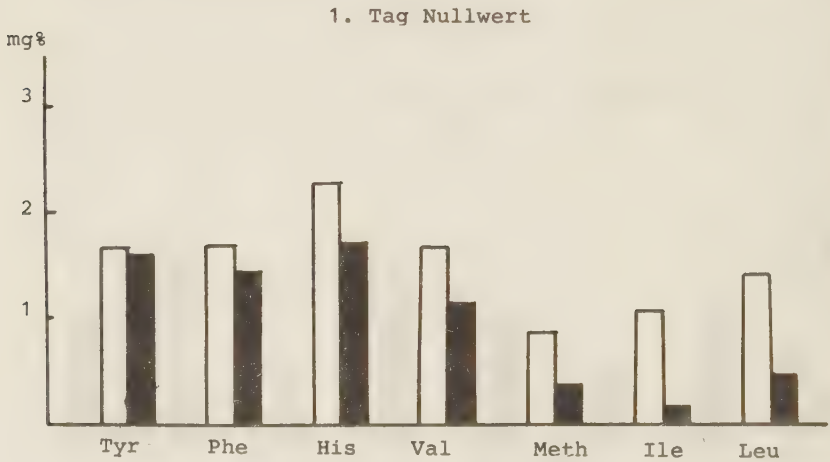
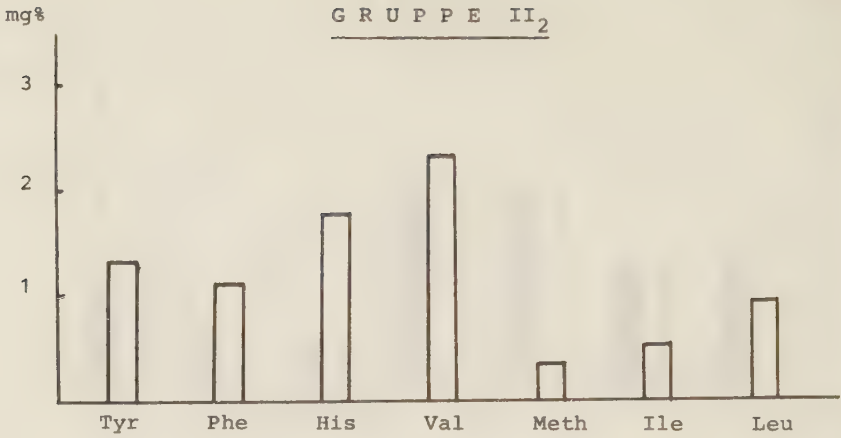
1. - 2. Tag



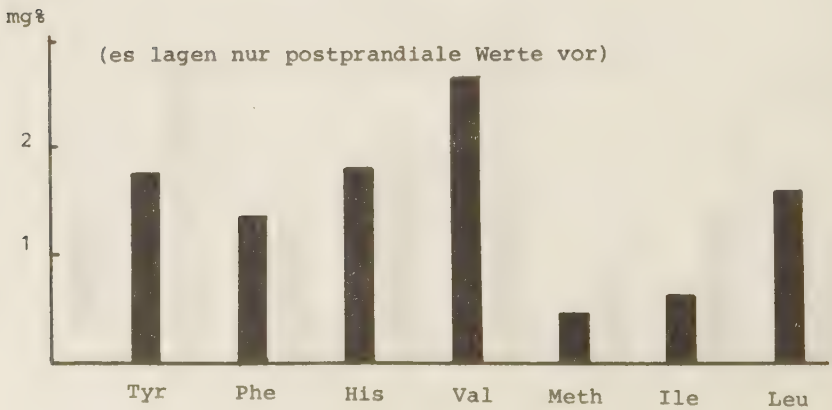
6. - 11. Tag

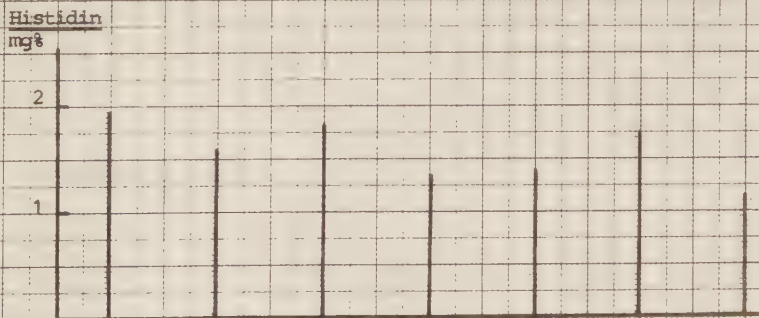
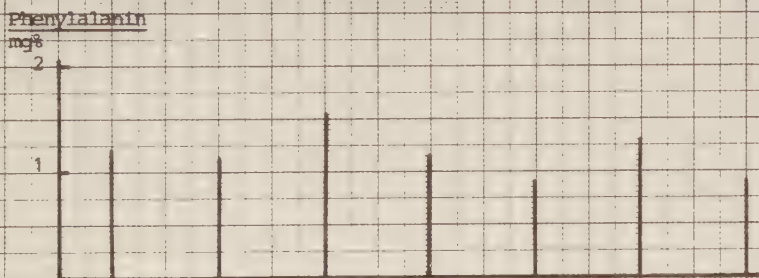
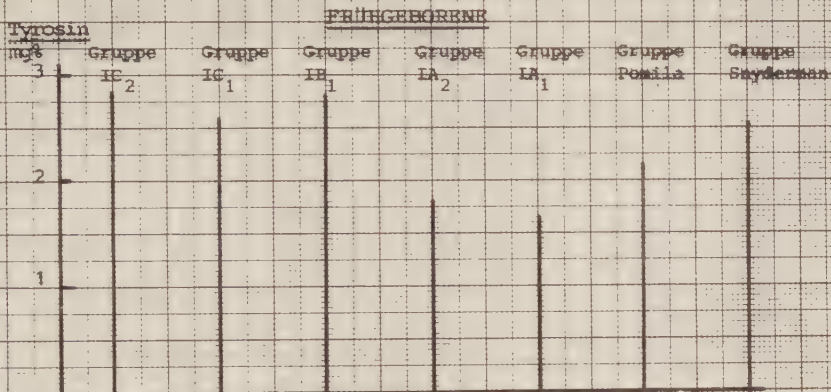
GRUPPE II₁





1. - 2. Tag





FRÜHGEBORENE

Valin

mg%

3

2

1

Gruppe IC₂ Gruppe IC₁ Gruppe IB₁ Gruppe IA₂ Gruppe IA₁ Gruppe Pomila Gruppe Snyderman

Methionin

mg%

1

Isoleucin

mg%

1

Leucin

mg%

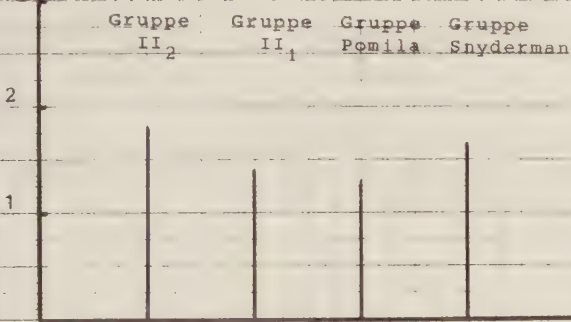
2

1

REIFGEBORENE

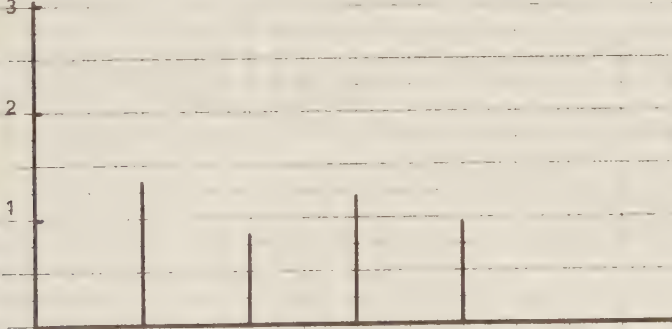
Tyrosin

mg%



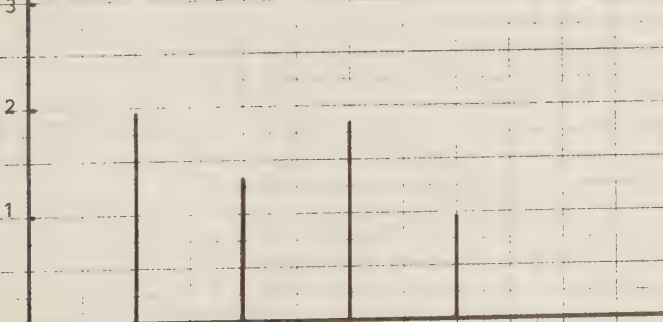
Phenylalanin

mg%



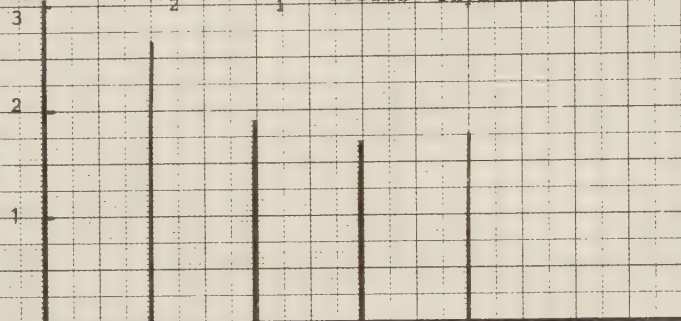
Histidin

mg%



RELIGGEORENE

<u>Valin</u> mg%	Gruppe II ₂	Gruppe II ₁	Gruppe Polima	Gruppe Snyderman
---------------------	---------------------------	---------------------------	------------------	---------------------

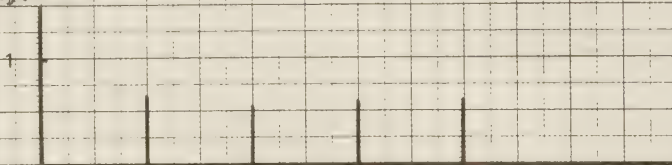


Methionin
mg%



Isoleucin

mg%



Leucin

mg%



F LITERATURVERZEICHNIS

1. BERGER, H.: Moderne Aspekte der künstlichen Säuglings-
ernährung
Internationales Symposium,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1971)
2. SNYDERMAN, S.E.: Protein and amino acid metabolism
in U. Stave, Physiol. of the Perinatal
Period
1, 441 (1968)
3. GORDON, H.H.,
LEVINE, S.Z. and
Mc. NAMARA, H.: Feeding of premature infants: A comparison
of human and cow's milk
Amer. J. Dis. Child 73, 442 (1947)
4. KAGAN, B.M. et al.: Body water changes in relation to nutrition
of premature infants
Ann. N.Y. Acad. Sci. 110, 830 (1963)
5. SNYDERMAN, S.E.,
BOYER, A., KOGUT,
M.D. and HOLT Jr.,
L.E.: The protein requirement of the premature
infant
I The effect of protein intake on the
retention of nitrogen
J. Pediat. 74, 872 (1969)
6. BERGER, H.: Die Ernährung des Kleinkindes
Med. u. Ernähr. 6, 106 (1965)
7. SNYDERMAN, S.E.
et al.: "Unessential nitrogen" a limiting factor
in human growth
J. Nutr. 78, 75 (1962)
8. SCRIVER, Ch. R.,
ROSENBERG, L.E.: Amino Acid Metabolism and its disorders
W.B. Saunders Company, Philadelphia, London,
Toronto (1973)
9. SCHMIDT, G.W.: Komplette Stickstoff-Bilanzen und Amino-
säurenanalysen bei Säuglingen
Fortschr. Med. 89, 351 (1971)
10. SCHMIDT, G.W.: Milcheiweiß in der Nahrung und Aminosäuren
im Blut und Harn bei Säuglingen
Fortschr. Med. 87, 1129 (1969)
11. SCHMIDT, G.W.: Auswirkungen des Eiweißgehaltes der Säug-
lingsnahrung auf die Aminosäuren im Serum
des jungen Kindes
Med. u. Ernähr. 9, 124 (1968)

12. SCHWERTFEGER, E.: Proteingehalt der Frauenmilch
Naturwiss. 52, 162 (1955)
13. DULGE, H.: Klinisch-Chemische Diagnostik
Verlag Urban und Schwarzenberg, München,
Berlin, Wien (1970)
14. LANG, K. und
FEKL, W.: Aminosäurenstoffwechsel und parenterale
Ernährung
Med. u. Ernähr. 10, 2 (1969)
15. HOLT Jr., L.E.,
SNYDERMAN, S.E.: The amino acid requirements of infants
J. Amer. med. Assoc. 175, 100 (1961)
16. LINDBLAD, B.S.,
BALDESTEN, A.: Time studies on free amino acid levels
of venous plasma during the neonatal
period
Acta paed. Scand. 58, 252 (1969)
17. DICKINSON, J.C.,
ROSENBLUM, H. and
HAMILTON, P.B.: Ion exchange chromatograph of the free
amino acids in the plasma of the newborn
infant
Pediatrics 36, 2 (1964)
18. GHADIMI, H. and
PECORA, P.: Plasma amino acids after birth
Pediatrics 34, 182 (1964)
19. HASELOFF, O.W. und
HOFFMANN, H.J.: Kleines Lehrbuch der Statistik
Verlag Walter de Gruyter & Co, Berlin (1965)
20. HAMILTON, P.B.: Ion exchange chromatography of amino acids
Anal. Chem. 35, 2055 (1963)
21. MOORE, S. and
STEIN, W.H.: Chromatographie determination of amino
acids by the use of automatic recording
equipment
Methods in Enzymology 6, 819 (1963),
edited by S.P. Colowick and N.O. Kaplan,
New York, Academic Press
22. von WILM, M.: Die rasche seriengemäße Bestimmung ein-
zelner Aminosäuren im Serum zur Diagnose
und Kontrolle angeborener Stoffwechsel-
störungen
Beckman report 2, 3 (1970)

LEBENS LAUF

Als Sohn des Versicherungskaufmanns Walter Stewin und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Kleine, wurde ich am 6. November 1942 in Berlin geboren.

Im Frühjahr 1967 bestand ich das Abitur an der Peter-A.-Silbermann-Schule, dem Berliner Abendgymnasium für Berufstätige.

Seit dem Wintersemester 1967/68 studierte ich Medizin an der Freien Universität Berlin.

Am 30.9.1968 bestand ich die naturwissenschaftliche, am 22.8.1970 die ärztliche Vorprüfung und am 3.5.1974 das Staatsexamen.

Ich bin verheiratet und habe zwei Kinder.

Herrn Prof. Dr. med. Heinrich Wiesener danke ich für seine Anregungen und seine Beratung beim Auftreten theoretischer und methodischer Schwierigkeiten.

Herrn Prof. Dr. med. vet. Claus-Peter Kedenburg sage ich Dank dafür, daß er es mir ermöglicht hat, diese Arbeit an seinem Institut anzufertigen.

Daneben danke ich Herrn Dr. med. Rolf Jütte und Fräulein Doris Schwarz für ihre freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

